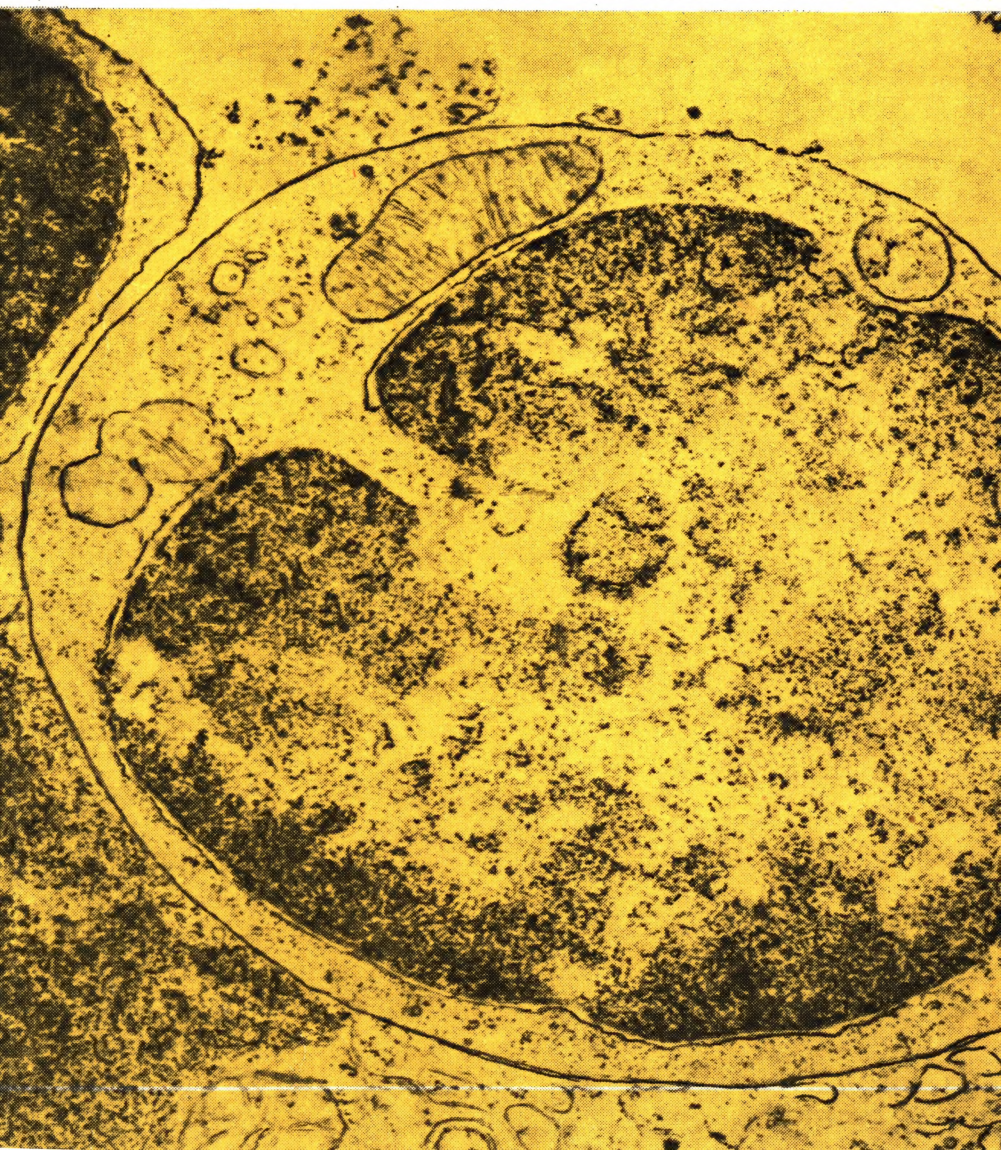
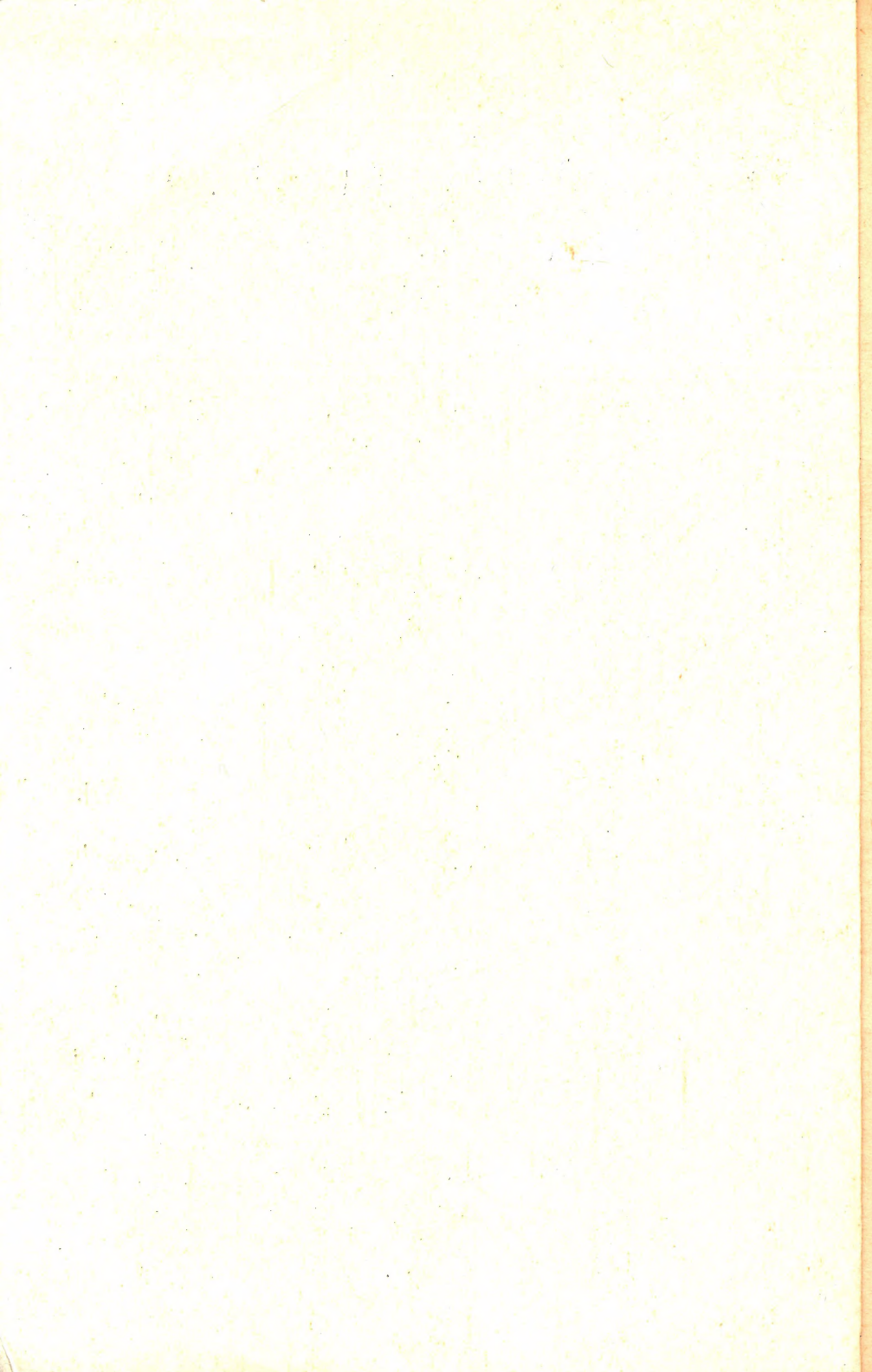


Дж. П. Талвар

ИММУНОЛОГИЯ КОНТРАЦЕПЦИИ





Immunology of Contraception

G. P. Talwar

Professor of Biochemistry and Head ICMR-WHO Research and Training Centre in Immunology, All-India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India; Member, Executive, The International Committee on Contraception Research, Population Council, New York. Jawaharlal Nehru Fellow



Edward Arnold

Дж. П. Талвар

Иммунология контрацепции

Перевод с английского
М. Ш. ВЕРБИЦКОГО



МОСКВА «МЕДИЦИНА» 1983

Талвар Дж. П. — профессор биохимии и руководитель Международного центра медицинских исследований и центра ВОЗ по исследованиям и обучению иммунологии, Всендийский институт медицинских наук, Нью-Дели, Индия; член административного совета Международного комитета по исследованию контрацепции, Совет популяций, Нью-Йорк. Стипендиат фонда Джавахарлала Неру.

ТАЛВАР Дж. П. **Иммунология контрацепции:** Пер. с англ. — М.: Медицина, 1983, 192 с., ил.

Talwar G. P. *Immunology of Contraception*. Edward Arnold, 1980.

Монография является одной из первых книг, посвященных иммунологии контрацепции. В книге приведены новые данные по иммунологии репродукции, беременности, контрацепции, описано влияние гормонов на иммунную систему. Рассмотрены иммунологические методы определения гормонов и контрацептивных агентов. Обсуждается возможность активной и пассивной иммунизации против отцовских, материнских и эмбриональных антигенов с целью регуляции репродукции. Рассмотрены перспективы использования антифертильных вакцин в человеческих популяциях, а также в ветеринарии.

Предназначена для широкого круга медиков и биологов, интересующихся иммунологическими аспектами репродукции и контрацепции.

В книге 41 рис., 8 табл., список литературы — 387 названий.

Т 4123000000—202 197—83
039(01)—83

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	8
Общее предисловие к серии выпусков	11
Предисловие	12
Общепринятые сокращения и словарь	14
Глава 1. Зачем нужна вакцина для регуляции фертильности	16
Потребность в вакцине	16
Принципы иммунологических подходов к регуляции фертильности	17
Глава 2. Естественное бесплодие, обусловленное иммунологическими факторами	20
Клинические сообщения об антиспермальных антителах у бесплодных пар	20
Типы антител, обнаруженные у бесплодных пар	22
Знаем ли мы компоненты, против которых направлены естественные антитела?	24
Являются ли антитела действительно причиной бесплодия неясного происхождения?	26
Клеточный иммунитет	28
Почему антиспермальные антитела имеются не у всех замужних женщин?	28
Патологические нарушения	30
Естественные антитела против других антигенов репродуктивной системы у бесплодных пар	31
Список литературы	31
Глава 3. Иммунологические последствия вазэктомии	33
Частота образования спермореагирующих антител у мужчин, перенесших вазэктомию	33
Кинетика появления, исчезновения антител и их стойкости	34
Типы вырабатываемых антител	35
Этиология	36
Значение иммунного ответа, вызываемого вазэктимией	36
Связана ли вазэктомия с другими аутоиммунными патологическими реакциями?	38
Восстанавливается ли фертильность после анастомоза?	39
Список литературы	40
Глава 4. Иммунобиология беременности	41
Вступительные замечания	41
Содержит ли эмбрион в ранней стадии развития антигены, контролируемые отцовским геномом?	42
Сенсибилизация матери антигенами плода	43
Является ли матка иммунологически привилегированным органом?	44
Трофобластный барьер	46
Влияние иммунного ответа на плод	50
Сывороточные блокирующие факторы	51
Происходит ли общее угнетение иммунных реакций при беременности?	51

Заключительные замечания	58
Список литературы	59
Глава 5. Влияние гормонов на иммунный ответ	61
Гормональная блокада развития первичного лимфоидного органа	62
Гормональная регуляция метаболизма тимуса	62
Кортикостероидные гормоны	66
Влияние половых стероидов и контрацептивных гормонов	67
Влияние гормонов беременности	68
Наличие рецепторов биогенных аминов и простагландинов на лимфоцитах	70
Список литературы	70
Глава 6. Иммунологические методы оценки гормонов и противозачаточных агентов	72
Антисыворотки	72
Меченые гормоны	73
Список литературы	74
Ферментативные иммуноанализы	74
Список литературы	76
Глава 7. Иммунологические подходы к контрацепции	76
Общие замечания	76
Типы иммунного ответа	77
Сопоставление местного и системного иммунитета	78
Активная иммунизация и пассивный перенос антител для прерывания беременности	78
Список литературы	80
Глава 8. Репродуктивная система: целенаправленные иммунные воздействия	80
Список литературы	84
Глава 9. Иммунизация против мужских антигенов	85
Вступление	85
Источники критического антигена(ов)	86
Все ли сперматозоиды идентичны в антигенном отношении?	87
Ауто- и изоиммунизация	88
Иммунизация женских особей мужскими антигенами	98
Заключение	104
Список литературы	107
Глава 10. Иммунизация против женских и эмбриональных антигенов	108
Преимущества иммунизации против женских антигенов	108
Теоретически возможные мишени для вмешательства	109
Список литературы	142
Глава 11. Возможное значение иммунизации против эмбриональных белков на рост опухолей вырабатывающих эти белки	146
Частота опухолей, секретирующих эмбриональные белки	146
Играет ли какую-либо роль ХГЧ при опухолевом росте?	148
Последствия иммунизации против ХГЧ	149
Заключительные замечания	151
Список литературы	152
Глава 12. Риск иммунизации против репродуктивных антигенов: требования безопасности	153

Особенности исследования безопасности иммунологических методов	155
Виды животных для проведения испытаний	155
Необходимость в разработке модельных систем	156
Вопрос специфичности	158
Рекомендации	159
Список литературы	164

Глава 13. Применение иммунологических методов регуляции фертильности в ветеринарии	164
Иммунологический подход к иммунизации самцов	165
Контроль плодовитости и половое поведение у самок домашних животных	168
Быстродействующие методы	169
Заключительные замечания	170
Список литературы	170

Глава 14. Общие замечания о применении антифертильных вакцин и перспективы их использования	171
Перспективы применения антифертильных вакцин	173
Достижения в области разработки различных антифертильных вакцин	176
Антигены спермы	178
Стадиоспецифические антигены	180
Компоненты плаценты и ранние продукты	180
Когда антифертильные вакцины будут готовы для практического применения?	183

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

Содержание этой сравнительно небольшой книги несколько выходит за рамки названия: в ней, помимо основного вопроса (иммунология контрацепции), раскрытого с достаточной полнотой, освещен ряд смежных проблем, касающихся иммунологии беременности и некоторых форм бесплодия. Эти главы представляют общебиологический и общемедицинский интерес, так как в них в простой и доступной форме отражены успехи последних лет по изучению иммунологических взаимосвязей организмов матери и плода. В СССР по этой теме были опубликованы монографии Л. С. Волковой (1970) и М. Ш. Вербицкого (1979). Тем не менее название книги и ее содержание свидетельствуют о том, что основной задачей автор сделал анализ современных работ и проведение собственных исследований, направленных на изучение иммунологии контрацепции и, главное, разработку антифертильных вакцин. Именно это представляет наибольший интерес потому, что на русском языке нет книг об иммунологической контрацепции.

Необходимость в разработке новых контрацептивных средств диктуется не только острейшими проблемами демографического взрыва (особенно актуальными для таких стран, как, например, Индия). Получившие широкое распространение контрацептивные стероиды отнюдь не безопасны для здоровья и вызывают ряд осложнений (гормональные нарушения, опухолообразование и пр.). Аборты вредны для здоровья, часто осложняются воспалительными процессами, вторичным бесплодием, прободением матки и в целом приносят ощутимый экономический урон. В качестве гарантированного (100 %) способа ограничения рождаемости в Индии и некоторых других странах получила распространение вазэктомия. Однако мы не можем согласиться с автором книги проф. Дж. П. Талваром в том, что эта операция имеет ряд преимуществ. Как отмечает сам Талвар, этот способ необратим, может сопровождаться такими осложнениями, как аутоиммунные процессы, гранулемы (см. главу 3). Имеются данные о том, что последствиями вазэктомии могут быть артриты, тромбофлебиты, рассеянный склероз, амилоидоз.

В данной книге рассмотрены возможности предупреждения или прерывания беременности пассивным переносом антигенов или активной иммунизацией. Большую трудность представляет получение в достаточном количестве специфических антител для пассивной иммунизации женщин. Автор коротко

говорит о перспективе применения гибридных антител. Между тем именно гибридная технология может обеспечить в неограниченном количестве моноклональными антителами заданной специфичности. В общую иммунологию с помощью гибридных антител уже внесен огромный вклад.

В книге рассмотрены также возможности целенаправленного иммунологического воздействия на те или иные звенья репродуктивной системы. Описаны преимущества и недостатки иммунизации против антигенов женской репродуктивной системы, эмбриональных стадиоспецифических, мужских половых клеток, указаны антигены-мишени.

Сам Талвар является приверженцем иммунизации и получения вакцин против антигенов женской репродуктивной системы. По-видимому, наиболее перспективно получение антител или вакцин к антигену(нам) блестящей оболочки яйцеклетки и к гормонам плаценты, в частности хориогонадотропину человека (ХГЧ). Наиболее успешны исследования по получению антифертильной вакцины на основе ХГЧ. Отдельные фрагменты ХГЧ даже искусственно синтезированы. Правда, они не иммуногенны или слабо иммуногенны. Приведены материалы по клиническому испытанию в 4 странах вакцины, представляющей собой β -субъединицу ХГЧ, конъюгированную с носителем — столбнячным анатоксином. Талвар считает, что во всех случаях вакцина не оказывает вредного действия. Однако Комитет экспертов ВОЗ (8—9-й ежегодные отчеты ВОЗ по репродукции человека за 1979—1980 гг.) считает необходимым проведение более длительных исследований на соответствующих моделях у животных (в том числе приматов) по оценке безопасности иммунизации препаратами ХГЧ, прежде чем можно будет рекомендовать этот способ контрацепции для клинического использования.

Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что безвредная вакцина ХГЧ может быть использована не только для профилактики оплодотворения, но и против ряда опухолей, клетки которых синтезируют большое количество ХГЧ.

Автор книги многократно подчеркивает, что главная трудность при использовании вакцины ХГЧ — большая индивидуальная вариабельность титров антител. А при низких титрах беременность не предупреждалась. Здесь надо сказать, что индивидуальная вариабельность иммунного ответа на один и тот же антиген связана с действием специфических генов иммунного ответа (Ig-гены). В этой связи большой интерес представляет сформулированный в последние годы иммуногенетический принцип создания искусственных высокоиммуногенных вакцинирующих молекул*. Суть этого под-

* Р. В. Петров, Р. М. Хантов, Р. И. Атауллаханов. Иммуногенетика и искусственные антигены. — М.: Медицина, 1982. — *Прим. ред.*

твержденного экспериментально принципа в том, чтобы «обойти» Ig-генный контроль силы иммунного ответа и заставить слабореагирующую или нереагирующую на данный антиген особь реагировать фенотипически сильно, развивая полноценный иммунный ответ. Такая фенотипическая коррекция открывает новые, ранее не существовавшие возможности создания вакцинирующих препаратов не только против еще непобежденных инфекций, а также против рака и, можно думать, для получения высокоэффективных антифертильных вакцин.

В заключение следует отметить, что книга посвящена истории, достижениям и перспективам сложной области медицины, которая во многом еще недостаточно разработана. Этим объясняется то, что большинство описанных в книге научных направлений, ведущих к созданию антифертильных вакцин, только намечены теоретически без клинического и даже экспериментального подтверждения, и то, что автору не удалось избежать повторений. В целом книга представляет несомненный интерес. Простота и доступность изложения материала позволяют рекомендовать ее в качестве вводного курса для ознакомления медиков и биологов с иммунологией репродукции и контрацепции.

Доктор медицинских наук
проф. Р. М. Хаитов

ОБЩЕЕ ПРЕДИСЛОВИЕ К СЕРИИ ВЫПУСКОВ

За последние 20 лет влияние иммунологических теорий на практическую медицину неуклонно возрастает. Видимо, можно назвать очень мало областей, не имеющих отношения к иммунологии. Вначале иммунологические методы применялись только для уточнения диагностики и получения сывороток и вакцин. Новые подходы в области лечения характеризуются не только применением вакцин, сывороток и иммунодепрессантов, но и более рациональным использованием обычных лечебных средств. Знакомство с иммунологией необходимо особенно при лечении опухолей, в частности для того, чтобы правильно применять хирургические методы и лучевую терапию. Кроме того, благодаря иммунологической информации, собранной в других областях, нам легче разобраться в механизмах, посредством которых один и тот же этиологический агент может вызвать самые разнообразные клинические проявления. Болезнь может приобретать различные формы в зависимости от характера иммунологической реакции, вызывающей повреждение тканей. У лиц, у которых происходит реакция специфически сенсибилизированных лимфоцитов с антигеном в рамках клеточного ответа или замедленной реакции повышенной чувствительности, симптомокомплекс совершенно иной, чем при реакциях растворимых иммунных комплексов с каскадом комплемента.

По мере того как в этой области накапливается много нового научного материала, клиницисты часто отмечают недостаточность информации. Ежегодно начинается издание нового специального научного журнала по иммуногенетике, иммунохимии или иммунологическим методам. Обширность материала часто смущает нас. Учебники иммунологии нередко оказываются слишком элементарными, тогда как обзорные статьи бывают слишком сложными для терапевта или хирурга, который хотел бы познакомиться с аспектами темы, имеющими прямое отношение к его специальности. Надо надеяться, что эта серия удовлетворит отчасти возникшую потребность, так как мы будем публиковать сравнительно короткие обзоры и основное внимание уделять иммунологическим проблемам, интересующим как клиницистов, так и сотрудников клинических лабораторий.

Джон Тэк
Королевский колледж хирургов в Англии,
Лондон

ПРЕДИСЛОВИЕ

Мысль о создании монографии на рассматриваемую тему была высказана редактором серии J. Turk, постоянно увлеченным новыми поисками, и если мы достигнем успеха, то это будет его заслугой. Я охотно согласился принять участие в написании монографии отчасти потому, что уже занимался изучением этой проблемы. Мне казалось, что было бы весьма интересно глубоко изучить тему, которую можно считать старой (первые эксперименты в этой области относятся к 1899 г.) и которая вместе с тем отличается новизной и является перспективной (новый журнал *Journal of Immunology of Reproduction* начал выходить только в 1979 г.).

Я заинтересовался этой темой около 8 лет назад. Тогда я был назначен членом исполнительного совета старого, знаменитого университета с множеством отделений, а следовательно, мне приходилось раз в два месяца посещать Варанаси. Этот древний город, раскинувшийся на берегах Ганга, каждый раз вызывал во мне смешанные чувства. Здесь была плодородная илистая наносная почва, множество подпочвенных вод, полноводная река и вместе с тем люди недоедали. Их низкий рост свидетельствовал о том, что с каждым поколением естественные запасы уменьшаются. Численность населения возрастала, полезная территория земли не увеличивалась. Темпы повышения производительности труда отнюдь не соответствовали числу едоков. Планирование численности семей, хотя оно поддерживалось Штатом в рамках общей политики, было малоуспешным и не имело, видимо, лучших перспектив в ближайшем будущем. Возможно, что это явление характерно не только для Уттар Прадеш, но и для многих стран мира, где происходит взрывной рост населения. Население Земного шара увеличилось с 250 млн. до 1 млрд. человек за 1830 лет. Через 100 лет был достигнут второй миллиард, через 30 лет — третий, через 15 лет — четвертый, и можно ожидать, что население составит 5 млрд. человек к 1987 г.

Разве нельзя разработать метод ограничения рождаемости, который можно было бы применить в массовых масштабах, разве нельзя мобилизовать собственные защитные механизмы организма для регуляции фертильности? Эта мысль не простая фантазия, а базируется на основных процессах развития и физиологии беременности. Иммунная система закодирована так, что компоненты организма, вырабатываемые в период жизни плода, рассматриваются ею как нечто «свое». Те компоненты, которые появляются в постнатальный период, по

сути «чужеродны» ей. Сперматогенез и развитие яйцеклетки начинаются в пубертатный период (период полового созревания), и все новые молекулы, которые появляются в это время и отличаются от молекул других тканей, могут вызвать реакции со стороны иммунной системы. Точно так же во время беременности начинается образование новой ткани, плаценты, и противодействие этому образованию или продуктам плаценты при помощи специальных методов, нарушающих толерантность, очевидно, было бы несовместимо с возникновением и сохранением беременности.

Если бы эти гипотезы были верны, то они должны были как-то проявиться в процессах, происходящих в природе. Если бегло познакомиться с литературой, то мы убедимся действительно, что существуют случаи бесплодия неясного происхождения, но явно вызванные иммунологическими причинами. У многих мужчин после вазэктомии вырабатываются антитела к сперме. Таким образом, иммунология имеет прямое отношение как к лечению бесплодия (определенного типа), так и к контролю фертильности.

В этой книге, как можно видеть по содержанию, освещены многочисленные темы. Здесь обсуждаются такие основные проблемы, как механизм защиты плода, содержащего 50 % отцовской генетической информации, от иммунологического отторжения матерью, а также влияние гормонов и контрацептивных стероидов на иммунный ответ. Однако основное внимание уделено анализу современных исследований, направленных на разработку антифертильных вакцин. Эта тема рассматривается с точки зрения исследователя, который сам глубоко увлечен работой в этой области. Разрабатывая эту тему, я не ограничиваюсь обзором литературы и описанием фактов, хотя отнюдь не игнорирую их. Ставятся задачи и делаются попытки найти ответ на многие вопросы и нерешенные проблемы. Предлагаются теории, и на основании личного опыта автор рекомендует те пути, которые, очевидно, надо избрать на перекрестке со многими другими направлениями. Таким образом, настоящую работу нельзя считать простой антологией текущей литературы, что явно связано как с преимуществами, так и недостатками. Книга несет на себе отпечаток личности автора; но возможно, что правильные или ошибочные взгляды его в какой-то мере отразились в ней.

Антифертильные вакцины являются принципиально новыми средствами контрацепции. У нас нет опыта их применения или использования близких к ним медикаментов. Контрацептивные средства в целом должны отвечать очень строгим критериям безопасности, и прежде чем новое контрацептивное вещество будет внедрено в клиническую практику, потребуется несколько лет его проверки и отработки. Однако иммунологические методы, возможно, вскоре найдут себе

применение в борьбе с раком и в ветеринарии, этим вопросам посвящены отдельные главы.

Мы рассчитываем на специалистов, работающих в области различных дисциплин: иммунологии, репродуктивной биологии, эндокринологии, акушерства и гинекологии, ветеринарии и др. Лица и организации, осуществляющие программу планирования численности семей и меры по регуляции уровня населения, а также работники промышленности могут быть также заинтересованы современным состоянием этого вопроса. Чтобы свести к минимуму использование профессиональных терминов, я пытался излагать материал языком, понятным большинству читателей. Для ученых-теоретиков мы указываем первоисточники, где можно легко ознакомиться со всеми деталями.

Новое в этой книге заимствовано из обзора, написанного мною для Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) Регионального ведомства по Юго-Восточной Азии в 1976 г. Я благодарю д-ра V. T. H. Gunaratne, Регионального директора, и д-ра В. К. Anand, помощника Генерального директора, за разрешение воспользоваться этим материалом для настоящей книги.

Многие мои сотрудники и студенты оказали мне различную помощь в подготовке рукописи и рисунков (иллюстраций). Особенно я хотел поблагодарить S. Ramakrishnan, S. Gupta, S. Paul, C. Das, R. K. Naz, Navreet, S. Pandian, S. J. Sandhu, A. Tandon, Mrs. Bhatia. Приношу благодарность моей машинистке R. Malhotra, а также Н. К. Sharma за иллюстрации. Книга посвящается всем исследователям разных стран, которые стремятся воспользоваться методами и принципами других дисциплин для создания в будущем нового типа методов для регуляции фертильности.

Дж. П. Талвар

Нью Дели, 1979.

ОБЩЕПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ И СЛОВАРЬ

Аллогенный	— иммуногенетическое различие, при котором донор и реципиент — разные члены гетерогенной популяции одного вида.
Антиген	— вещество, способное вызывать иммунологический ответ.
Аутологичный	— принадлежащий тому же индивиду.
КОИ	— клеточно-опосредованный иммунитет.
Эпитоп	— определенная антигенная детерминанта.
ПАФ	— полный адъювант Фрейнда.
ХГЧ	— хориальный гонадотропин человека.
РГ-ЛГ	— рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона
(или ЛГ-РГ)	— лютеинизирующий рилизинг-гормон).
Сингенный	— генетически идентичный.
Ксеногенный	— иммуногенетическое различие между представителями разных видов.

ЗАЧЕМ НУЖНА ВАКЦИНА ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ФЕРТИЛЬНОСТИ?

ПОТРЕБНОСТЬ В ВАКЦИНЕ

Население Земного шара увеличивается стремительными темпами. Подсчитано, что численность населения к концу нашего столетия превысит 6 млрд. человек. В Индии прирост населения в настоящее время равен примерно 2,1 %, т. е. только в этой стране за год население увеличивается на 13 млн. человек, что соответствует общей численности населения Австралии. Еще более беспокоит ситуация, возникшая в некоторых других развивающихся странах Азии, Африки и Латинской Америки.

Благодаря внедрению иммунопрофилактики и мер по охране здоровья смертность от болезней неуклонно снижается. На рис. 1 можно видеть, что темпы снижения смертности за последние 70 лет в Индии выше, чем темпы снижения рождаемости. Кривая, показывающая снижение смертности, имеет более крутой наклон, чем кривая, отражающая темпы снижения рождаемости, и если в дальнейшем эта тенденция будет продолжаться, то расстояние между кривыми еще больше увеличится. Таким образом, если не будет принято эффективных мер к тому, чтобы выравнять эти два показателя, проблема перенаселения при дальнейшем расширении (улучшении) социальной помощи и профилактической медицины станет еще более острой.

Существует целый ряд контрацептивных средств, но ни одно из них не является полностью удовлетворительным в решении проблемы перенаселения. Мужчины часто предпочитают не пользоваться презервативами. Внутриматочные средства (спирали) связаны с дополнительной кровопотерей, что вряд ли допустимо среди населения, страдающего анемией. Поэтому почти столько же спиралей удаляется, сколько и вставляется. Стероидные контрацептивные препараты также имеют свои недостатки. Кроме отмеченных у населения западных стран, у людей, получающих с пищей мало белков и страдающих паразитарными болезнями, имеется риск токсического влияния на печень. Аборты разрешены не везде и обходятся недорого. Хирургическая стерилизация мужчин и женщин — это способы необратимые, на которые идут неохотно, особенно в семьях, где нет уверенности в выживании

детей. Таким образом, существует потребность в новых методах регуляции фертильности, которые будут лишены указанных недостатков, более приемлемы и более удобны на практике.

Некоторые из этих требований могут быть удовлетворены благодаря особенностям иммунологических методов. Им надо пользоваться периодически, а не постоянно. Их можно применять в широких масштабах. Соответствующую помощь могут оказывать как врачи, так и вспомогательный персонал, причем не требуется сложных хирургических вмешательств и госпитализации. Пациенты могут даже применять их самостоятельно. Благодаря огромной пользе, которую принесли вакцины в борьбе с чумой, оспой, полиомиелитом и другими заразными болезнями, они завоевали себе широкое признание среди городского и сельского населения. Таким образом, почти нет сомнений в том, что если будет приготовлена безопасная и эффективная антифертильная вакцина, то она займет важное место в программах планирования численности семьи.

Возможно, что антифертильные вакцины окажутся ценными не только для населения развивающихся стран. Вакцина обратимого действия, вызывающая меньше побочных явлений, чем стероидные пилюли, может с успехом заменить пероральные гормональные противозачаточные средства и в развитых странах. Она позволит избавить организм от постоянной перегрузки стероидами. Кроме того, стероидные противозачаточные средства действуют путем блокирования овуляции, т. е. нарушают физиологический процесс. Кроме того, могут быть созданы антифертильные вакцины, действующие за пределами системы гипоталамус — гипофиз — гонады и не влияющие на нормальные физиологические процессы.

ПРИНЦИПЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К РЕГУЛЯЦИИ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Принцип иммунологического подхода к регуляции фертильности заключается в мобилизации эндогенных способностей

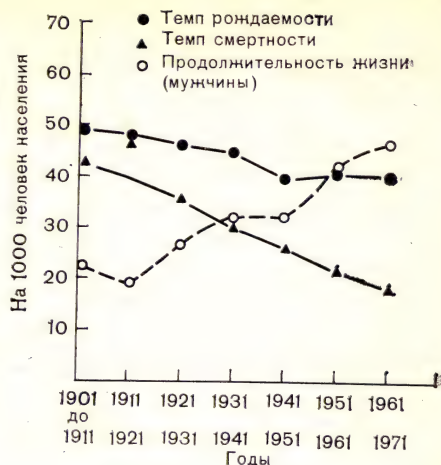


Рис. 1. Темпы рождаемости, смертности и продолжительность жизни в Индии за первые 7 десятилетий настоящего столетия по данным переписи населения.

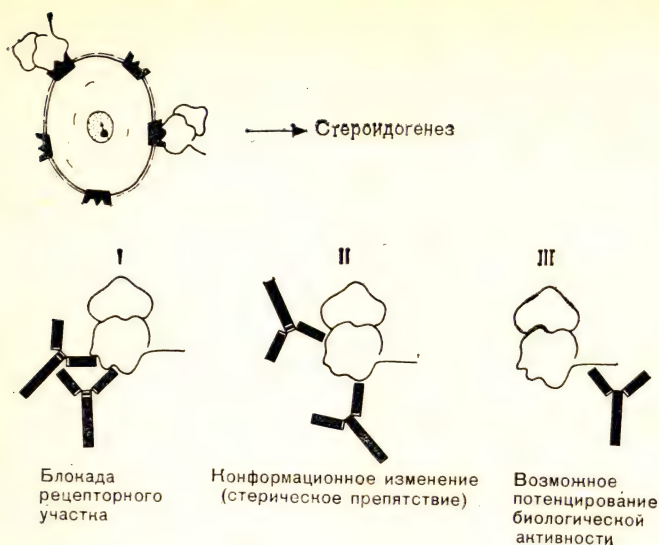


Рис. 2. Нейтрализация антителами биологической активности гонадотропинов на примере клеток Лейдига, которые, подобно лютеиновым клеткам (клеткам желтого тела), содержат связанные с мембраной рецепторы для гонадотропинов. Взаимодействие гормона с рецептором ведет к стероидогенезу. Возникают три возможных варианта. Два из них представлены схематическими моделями I и II, обуславливают блокирование антителами гонадотропининдуцированного стероидогенеза. Накоплены экспериментальные данные и для ситуации, когда антитела не способны нейтрализовать гормональную активность в результате соединения с участком гонадотропина, который не влияет на биологическое действие гормона (схематическая модель III). Антитела могут потенцировать биологическую активность гормона, снижая деградацию и экскрецию его [Talwar G. P. Journal of Reproductive Medicine, 1979, 22, 61].

организма на критических этапах репродуктивного процесса. Задача заключается в том, чтобы использовать для предупреждения репродукции специализированные клетки и молекулы, посредством которых иммунная система защищает организм от вредных бактерий, вирусов и патогенов. Иммунная система способна специфически распознавать детерминанты на молекулах и определенные конформации макромолекул. В норме она толерантна ко всем «своим» компонентам и реагирует лишь на вещества для нее чужеродные или такие, которые появляются на поздних стадиях онтогенеза, после созревания самой иммунной системы, например сперматозоидов, образующихся в постнатальном периоде жизни. Однако в настоящее время существуют способы нарушения толерантности, благодаря которым иммунная система начинает реагировать на определенные компоненты собственного организма. Эти достижения дали возможность приступить к исследованиям, направленным на разработку вакцины для

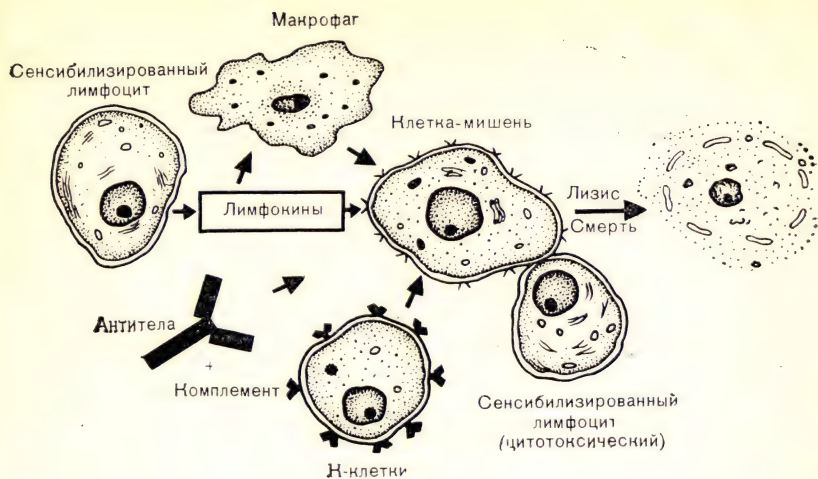


Рис. 3. Схематическое представление о способе действия сенсibilизированных лимфоцитов, которые либо самостоятельно, либо вместе с антителами убивают или лизируют клетки, несущие антигены-мишени.

регуляции фертильности. Если известна молекула-мишень, необходимая для успешной репродукции, то можно создать методы, вызывающие иммунный ответ на эту молекулу. Антитела и иммунные клетки должны нейтрализовать биологическую активность молекул-мишеней и/или оказывать цитотоксическое и литическое действие на клетки-носители этих антигенов. Различные механизмы этого действия показаны на рис. 2 и 3.

Можно задать вопрос, осуществимы ли практически поиски иммунологических средств для регуляции такого жизненно важного и сложного процесса, как репродукция. Ответ нам дают, по крайней мере отчасти, эксперименты, поставленные самой природой, а именно клинические случаи бесплодия у супружеских пар, у которых все, казалось бы, нормально и блокада обусловлена иммунологическими факторами. Другой вопрос — это происхождение блокады у данного индивида; ответа на этот вопрос мы не знаем, но антигены, к которым направлена блокада, в разных клинических случаях постепенно становятся известными.

Можем ли мы по желанию вызвать иммунный ответ против определенного белка репродуктивной системы? Приведет ли это к регуляции фертильности? У экспериментальных животных, включая приматов, активная иммунизация против ряда гормонов и белков репродуктивной системы оказалась вполне эффективной в отношении регуляции фертильности. В этих случаях действуют именно антитела; это подтверждено тем, что тот же результат был получен при пассивном введении

готовых антител известной специфичности. Таким образом, нет теоретических возражений против создания антифертильных вакцин. Неудивительно, что в этой области ведется большая работа в последние годы. Сможем ли мы получить в ближайшем будущем практически удобную адекватную вакцину, которая была бы эффективной, действовала бы обратимо, не вызывала бы побочных явлений при кратковременном и длительном применении, — это зависит от изобретательности исследователей, которые должны найти правильные молекулы-мишени, и от того, научимся ли мы успешно влиять на факторы, регулирующие иммунный ответ. В следующих главах я вкратце опишу современное состояние исследований в этой интересной области.

ГЛАВА 2

ЕСТЕСТВЕННОЕ БЕСПЛОДИЕ, ОБУСЛОВЛЕННОЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ

Тот факт, что бесплодие у некоторых супружеских пар может обуславливаться иммунологическими факторами, представляет как практический, так и теоретический интерес. Для практикующего клинициста это означает, что для диагностики необходимо определить еще один параметр. После того как установлена причина, можно начать рациональное лечение. Исследователь получает ценные сведения о компонентах спермы и яйцеклетки, обладающих антигенными свойствами, и об иммунном ответе против этих антигенов, который может заблокировать фертильность. Правильное изучение клинического анамнеза в таких случаях может также дать информацию о непосредственно имеющих к нашей задаче вопросах, например: а) обратимости или необратимости иммунологической блокады против данного антигена и б) побочных явлениях и сопутствующих нарушениях (если они есть) метаболических процессов и деятельности различных органов и эндокринной системы.

КЛИНИЧЕСКИЕ СООБЩЕНИЯ ОБ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛАХ У БЕСПЛОДНЫХ ПАР

В 1954 г. Rumke, Wilson независимо друг от друга обнаружили антитела, реагирующие против сперматозоидов в сыворотке бесплодных мужчин. Wilson указывал на наличие массивной аутоагглютинации сперматозоидов в эякуляте двух обследованных больных мужского пола. Клинические и лабораторные исследования позволили исключить все анато-

мические и функциональные нарушения у их жен. Отсюда был сделан вывод, что причиной бесплодия, вероятно, было присутствие антиспермальных антител у мужей. Rumke наблюдал сходную ситуацию у больных с олигоспермией. Сыворотки некоторых больных эффективно агглютинировали сперматозоиды других доноров.

В дальнейшем данные, указывающие на роль иммунологических факторов при бесплодии, были опубликованы Nakabayashi с соавт. (1961) и Segal с соавт. (1961). Rao, Sadri (1960) применили метод гемагглютинации с антигеном, выделенным из замороженных и оттаянных сперматозоидов, и установили, что в 18 % из 368 обследованных бесплодных пар сыворотка мужа или жены давали положительные иммунные реакции в их тест-системе. В 1960 г. Behrman с соавт. представили данные, свидетельствующие о возможной небольшой роли несовместимости групп крови супругов по системе АВ0 в развитии бесплодия. Franklin, Dukes (1964) сообщили, что у 31 из 43 женщин, которые в течение 2 лет не могли забеременеть, в сыворотке содержались спермагглютинирующие антитела, тогда как в контрольной группе из 35 фертильных женщин только у 2 были найдены спермагглютинины. Агглютинины исчезли через 2—6 мес после прекращения контакта со спермой и 9 из 10 женщин первой группы забеременели. Эти наблюдения указывают на относительно короткую продолжительность естественного антительного ответа на антигены спермы, а также на необходимость постоянной антигенной стимуляции для сохранения агглютининов в организме. Быть может, по этой причине частота спермореагирующих антител оказалась особенно высокой среди проституток; у 35 из 48 женщин, т. е. у 72,9 %, сыворотка содержала агглютинины, реагирующие со сперматозоидами [Schwimmer et al., 1967].

Антиспермальные антитела были обнаружены не только в сыворотке партнеров мужского или женского пола, но получены также доказательства их присутствия в репродуктивном тракте, в особенности в экстрактах слизи шейки матки. Parish с соавт. (1967) нашли цитотоксические антиспермальные антитела в слизи шейки матки у 3 из 48 исследованных бесплодных женщин.

D'Almeida, Euyquem (1978) при помощи ряда методов установили, что слизь шейки матки содержала спермореагирующие антитела примерно у 50 % из 83 обследованных бесплодных женщин. Наличие антител в сыворотке не совпадало с наличием их в слизи; только у 14 женщин антиспермальные антитела были найдены в слизи шейки матки. Isojima с соавт. (1978) описывают случай, когда сыворотка содержала спермоиммобилизующие антитела в очень высоком титре, однако сперматозоиды свободно проникали в предвульвационную шеечную слизь, возможно, из-за отсутствия в ней C_3 -компо-

нента комплемента. Известны также случаи, в которых спермоиммобилизирующие антитела содержались в слизи шейки матки, но не в сыворотке.

Антитела слизи шейки матки могут иметь как системное происхождение, т. е. проникать в слизь шейки матки из циркулирующей крови (IgG), так и синтезироваться на месте (IgA). Очевидно, следует полагать, что антитела и/или иммунные клетки могут эффективно противодействовать фертильности только в местах, куда вводится сперма, где она транспортируется или там, где происходят оплодотворение и имплантация бластоциста.

ТИПЫ АНТИТЕЛ, ОБНАРУЖЕННЫЕ У БЕСПЛОДНЫХ ПАР

Вышеприведенные данные, как и результаты других исследований [Menge, 1970; Shulman S., Shulman J., 1971; Husted, Hjort, 1975; Jones et al., 1976], позволяют сделать вывод, что у бесплодных пар выявлены три типа иммунологических реакций. Они вкратце описываются ниже.

Аутоагглютинины у мужчин

Антиспермальные антитела у мужчин вызывают агглютинацию сперматозоидов. При больших количествах аутоагглютининов возможно бесплодие. Антигены спермы образуются в поздней стадии онтогенеза, и возможно, что у мужчин отсутствует иммунологическая толерантность к этим антигенам. В норме они заключены в репродуктивном тракте, но при нарушении гематотестикулярного барьера образуются аутоантитела к этим антигенам.

Антиспермальные антитела у женщин

У женщин можно обнаружить антитела к сперме мужа или донора, т. е. антитела к изоантигенам спермы. Антитела могут присутствовать в сыворотке или в секретах репродуктивного тракта. Изоантитела встречаются как у бесплодных, так и у фертильных женщин. Ниже рассматриваются случаи, когда они могут быть причиной бесплодия неясного происхождения.

Антитела к аллоантигенам групп крови АВ0 и антигенам гистосовместимости

Антигены гистосовместимости локуса HLA, а также H-Y-антиген проявляются на поверхности сперматозоидов. Нет ясных доказательств о связи несовместимости супругов по антигенам системы АВ0 и бесплодием. Механизмы, предупреждающие отторжение эмбриона, несущего антигены, детерми-

нированные отцовским геномом, обсуждаются в главе 4. Таким образом, антитела к аллоантигенам, вероятно, не связаны с бесплодием.

Реактивность антител

Антиспермальные антитела по реактивности можно разделить на следующие типы:

- а) агглютинирующие
- б) иммобилизующие
- в) цитотоксические
- г) против внутренних компонентов, которые можно обнаружить при помощи иммунофлюоресценции в набухших, фиксированных или предварительно обработанных сперматозоидах.

Реакции антител первых трех типов осуществляются антителами и поверхностными антигенами, принадлежащими собственно сперматозоидам или покрывающими их. Для реакции антител типа «в» и иногда, но не обязательно для антител типа «б» необходим комплемент. Методы выявления изо- и аутоантител к антигенам сперматозоидов человека были стандартизованы и подробно описаны в появившейся недавно статье [Clinical and Experimental Immunology, 1976, v. 23, p. 175]. Boettcher, Kay (1973) доказали, что стероидно-белковые комплексы неспецифически агглютинируют сперматозоиды человека, поэтому необходимо строго различать агглютинацию, опосредованную антителами, и неспецифическую агглютинацию, вызываемую другими факторами. Спермагглютинины в сыворотке женщин почти всегда являются антителами, вызывающими агглютинацию сперматозоидов голова к голове, тогда как сыворотка крови мужчин содержит преимущественно агглютинины, реагирующие с антигенами хвоста [Clinical and Experimental Immunology, 1977]. Антиспермальные антитела обычно принадлежат к классам IgG и IgA. Антитела первого, но не второго класса связывают комплемент. Иммуноглобулины А, вероятно, синтезируются местно в репродуктивном тракте, а антитела IgG имеют системное происхождение и проникают в репродуктивный тракт из циркулирующей крови.

Та или иная сыворотка может содержать антитела против нескольких антигенов сперматозоидов. У трех бесплодных пар, обследованных Parish, Ward (1968), были обнаружены два разных типа цитотоксических антител и три типа антител, реагирующих со сперматозоидами, но не имеющих серьезного значения (безвредных антител). Безвредные антитела можно было абсорбировать семенной плазмой, и они были направлены к антигенам семенной плазмы, покрывающим сперматозоиды. Цитотоксические антитела принадлежали IgG-классу и были комплементзависимыми. Они реаги-

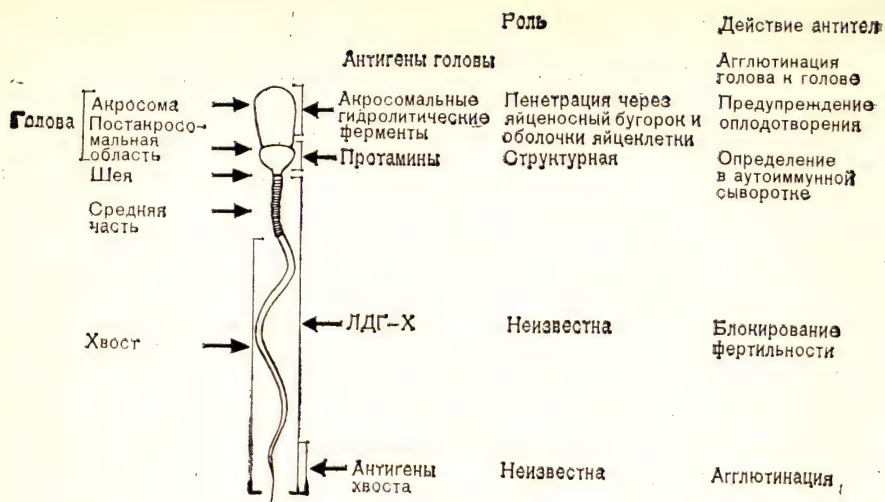


Рис. 4. Анатомическая локализация основных антигенов спермы, против которых обнаруживаются антитела у бесплодных пар или у экспериментальных животных при активной иммунизации.

ровали с головкой и средней частью сперматозоида мужа и других доноров. Без комплемента они иммобилизовали сперматозоиды, но не разрушали их. Цитотоксические антитела второго типа также относились к IgG-классу. Они иммобилизовали сперматозоиды, но не зависели от комплемента, реагировали с антигеном, содержащимся в хвосте, а также в теле и головке сперматозоидов.

ЗНАЕМ ЛИ МЫ КОМПОНЕНТЫ, ПРОТИВ КОТОРЫХ НАПРАВЛЕННЫ ЕСТЕСТВЕННЫЕ АНТИТЕЛА?

Локализация

Антигены, вызывающие образование агглютинирующих антител, видимо, присутствуют на головке, хвосте и кончике хвоста сперматозоида. Их можно обнаружить также в акросоме, экваториальном сегменте, постнуклеарном колпачке, ядре и средней части сперматозоида (рис. 4).

Антигены, покрывающие сперму и присущие самой сперме

Некоторые из этих антигенов присущи самой сперме, другие же находятся в содержащихся в секретах придаточных желез веществах, покрывающих сперматозоиды. Пока еще наши

знания недостаточно полны для того, чтобы определить химический характер всех антигенов, против которых вырабатываются естественные антитела. Некоторые из этих антигенов, очевидно, не имеют отношения к фертильности. Один из антигенов, покрывающих сперматозоиды, представляет собой, как установлено, лактоферрин [Neckman, Rumke, 1967]. Антитела к лактоферрину, полученные у кроликов, иммобилизовали человеческие сперматозоиды в присутствии компонента. Metz (1973) установил, что три спермагглютинирующие сыворотки от бесплодных женщин подавляли активность спермальной гиалуронидазы. Пока еще не установлено, могут ли антитела к этим компонентам действительно быть причиной бесплодия. Одна из причин расхождения между данными разных лабораторий заключается в различиях методики. В последнее время эти проблемы постепенно решаются. В г. Орхус (Дания) под руководством Т. Hjørt создан Международный Реферативный Банк по сбору сывороток от лиц, страдающих бесплодием (Международный Реферативный Банк по иммунологии репродукции). В настоящее время предприняты совместные попытки стандартизовать методы и анализировать сыворотки. Исследование одной и той же сыворотки в нескольких лабораториях при помощи унифицированных методов, очевидно, должно дать результаты, которые вызовут больше доверия. Анализ сывороток, проведенный этой группой, уже дал ценную информацию [Boettcher et al., 1977], которая изложена ниже.

1. В некоторых сыворотках содержались антитела к специфическому ферменту, лактатдегидрогеназе х (ЛДГ-х). Антитела реагировали как с человеческой, так и с мышинной ЛДГ-х.

2. В 2 сыворотках из 36 исследованных найдены изоантитела к акрозину человеческой спермы.

3. Получены указания на частичную перекрестную реакцию со спермой быка в отношении агглютининов, вызывающих агглютинацию голова к голове; сыворотки не вступали в перекрестную реакцию со сперматозоидами макаков резусов, баранов и кабанов.

4. В сыворотках бесплодных, а также вазэктомированных мужчин присутствовали аутоантитела к спермоспецифическим основным белкам, протаминам. Эти антитела не имели антиядерной или антимиохондриальной реактивности.

5. В ряде сывороток женщин содержались антитела, дающие сильную реакцию иммунофлюоресценции с блестящей оболочкой яйцеклетки свиньи.

6. Одна мужская сыворотка, видимо, реагировала с человеческим фолликулинстимулирующим гормоном (ФСГ); одна мужская и три женские обладали активностью к лютеинизирующему гормону (ЛГ).

7. В сыворотках бесплодных людей не было антител к антигенам НЛА.

8. Не было признаков перекрестной реакции различных спермальных антител с другими тканями.

Можно надеяться, что со временем мы получим более точную информацию об антигенах, к которым в экспериментах «самой природы» образуются антитела. Однако необходимо будет с уверенностью отличать антитела к «безвредным» антигенам и антитела, действительно ответственные за бесплодие.

Солюбилизация антигенов спермы

Предпринимались попытки солюбилизовать спермальные антигены. При помощи дитиотректола и деоксихолата натрия были экстрагированы антигены, ответственные за агглютинацию спермы [Gradl et al., 1978]. С помощью N-ацетилпиридин-хлорида в щелочных буферах были солюбилизованы спермоиммобилизующие антигены. Kolk, Samuel (1975) смогли фракционировать и выделить два основных белка, протамины 1 и 2, которые, возможно, ответственны за индукцию спермальных аутоантител. Таким образом, исследователи уже пытаются экстрагировать материал из сперматозоидов и собрать данные о частоте выявления антител, реагирующих с этими антигенами в сыворотке и секретах у бесплодных пар. Были разработаны методы, позволяющие разделить и выделить различные участки сперматозоида, т. е. головку, тело и хвост [Gall et al., 1974]. Акросомальный слой с пакетом гидролитических ферментов легко отделяется. Был изолирован акрозин. Очищен также фермент ЛДГ-х [Goldberg, 1972]. Эти исследования должны помочь установить молекулярную анатомию (структуру) сперматозоида.

являются ли антитела действительно причиной бесплодия неясного происхождения?

Существенные и несущественные антитела

Мнение о том, что антиспермальные антитела, возможно, ответственны за бесплодие у супружеских пар, у которых другие причины исключены, в основном базируется на статистических данных. Частота таких антител выше среди бесплодных популяций, чем у здоровых фертильных людей. Однако прямой причинной связи не доказано. Тот факт, что спермагглютинирующие антитела содержатся в сыворотках нормальных фертильных и даже беременных женщин [Schwimmer et al., 1967], означает:

1. Антигены сперматозоидов или антигены, покрывающие сперматозоиды, к которым у человека образуются изо-, ауто- или аллоантитела, весьма разнообразны.

2. Ряд этих антител не имеет значения для фертильности. Некоторые из реагирующих со спермой антител могут образовываться как следствие бактериальных инфекций.

Действительно, в 36 случаях бесплодия сыворотки, в которых содержались антитела к антигенам спермы, вступали в перекрестную реакцию с углеводными группами стенки *Salmonella paratyphi* и дрожжей [Sarkar, 1974].

Два наблюдения указывают на возможную роль антител или клеточного иммунного ответа к ряду важнейших спермальных антигенов при бесплодии. Tyler с соавт. (1967) обнаружили в группах фертильных и бесплодных пар почти одинаковую частоту реакции агглютинации сывороток со спермой донора. Однако, когда реакция была поставлена со спермой мужа, положительные реакции дали 6 из 43 сывороток бесплодных жен, тогда как у 12 фертильных женщин не было выявлено ни одной сыворотки, агглютинирующей сперматозоиды мужа. Аналогичные наблюдения сделала группа Behrman [Schwimmer et al., 1967]. По их данным, у 34 % женщин в III триместре беременности в крови обнаружены спермагглютинины к сперме донора, но ни в одном случае не было найдено антител к сперме мужа. Элемент специфичности, который намечается в этих клинических сообщениях, характерен для иммунологических ответов, и можно предположить, что у женщин иногда могут действительно образоваться антитела к компонентам сперматозоидов, с которыми они имеют контакт, и что это может привести к бесплодию.

В пользу этого постулата говорят и другие наблюдения, а именно не раз у бесплодных женщин наступала беременность после полового воздержания, продолжавшегося несколько месяцев, или после применения презервативов, предупреждающих контакт со сперматозоидами в течение некоторого времени, когда титры антиспермальных антител в сыворотках и секретах снижались. В наблюдениях Tyler с соавт. (1967), 10 бесплодных женщин, которые не имели контакта со сперматозоидами в течение 2—6 мес, утратили спермагглютинины и 9 из них в дальнейшем забеременели. Некоторого успеха, хотя и меньшего, добились и другие группы клиницистов [Schwimmer et al., 1967]. Из 29 женщин со спермагглютинидами, которым была рекомендована кондомтерапия (половые сношения с применением презервативов), у 19 антитела исчезали через 2—11 мес. Из них 14 женщинам применение при половых сношениях презервативов было отменено, но забеременели только четверо.

Возможные корреляции

Необходимо подчеркнуть, что простое присутствие спермо-реагирующих антител в сыворотке еще необязательно при-

водит к бесплодию. Некоторые из этих антител безвредны и не влияют на фертильность. Остается четко и убедительно определить антигены человеческой спермы, имеющие решающее значение для фертильности. На основании опубликованных данных можно сделать некоторые обобщения.

1. Местный иммунитет в репродуктивном тракте может иметь большее значение, чем присутствие антител в сыворотке, надо всегда искать способ его определения.

2. Титры антител выше 1:16 могут более точно коррелировать с бесплодием, чем более низкие титры [Rumke et al., 1974].

3. Присутствие агглютининов к сперме мужа, возможно, является более точным диагностическим показателем, чем наличие агглютининов к сперме донора.

4. Тесты на иммобилизацию спермы, возможно, более показательны, чем тесты агглютинации сперматозоидов, и результаты их, видимо, точнее коррелируют с бесплодием [Jones et al., 1976].

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ

Антитела обнаружить сравнительно несложно, поэтому понятно, что исследователи были заняты главным образом выявлением антител, реагирующих со спермой, у бесплодных пар; однако нет оснований игнорировать клеточные иммунные реакции в регуляции фертильности.

Много лет назад были опубликованы данные [Tyler et al., 1967], позволяющие предполагать возможность сенсибилизации женских лейкоцитов к антигенам спермы. Аллогенные ткани, пересаженные в матку грызунов, могут отторгаться [Beer, Billingham, 1974], а для этого требуется эффективная клеточная иммунная реакция. Клеточный иммунитет опять-таки может играть центральную роль при аутоиммунном асперматогенном орхите, о чем будет идти речь в главе 9.

ПОЧЕМУ АНТИСПЕРМАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ИМЕЮТСЯ НЕ У ВСЕХ ЗАМУЖНИХ ЖЕНЩИН!

Сперматозоиды содержат как ауто-, так и изоантигены. Их аутоантигенность у мужчин объясняется поздним появлением в процессе онтогенеза и изолированностью от иммунной системы, в результате чего мужчина, возможно, не толерантен к специфическим для спермы антигенам. При введении женщины сперматозоиды, содержащие «чужеродный» или «не свой» материал, в принципе должны вызвать иммунный ответ. При этом возникает вопрос, почему не у всех женщин, имевших половые сношения, в сыворотке крови или слизи шейки матки имеются антитела к сперме. Обычно приводятся следующие объяснения:

а) слабая иммуногенность при внутривлагалищном введении;

б) возможное присутствие защитных факторов в сперме.

Прежде чем рассмотреть эти вопросы, можно поставить другой, связанный с ними и важный вопрос. Если бы был вызван иммунный ответ типа «отторжения» к введенным интравагинально сперматозоидам, то привел бы он к утрате фертильности? Если это так, то, очевидно, существует какой-то эндогенный поддерживающий механизм, приводящий к бесплодию у женщины при повторяющихся половых сношениях. Обычно иммунный ответ на генетически неродственные сперматозоиды в генитальном тракте «имеет» облегчающий»¹ тип (см. главу 4).

Иммуногенны ли сперматозоиды в репродуктивном тракте!

В этой связи необходимо определить термин «иммуногенный». В опубликованных работах чаще всего сообщалось о спермореагирующих антителах описанного выше типа. Есть многочисленные данные об образовании антител при системном введении сперматозоидов или семени человека. Однако интравагинальное введение вызывает сильный антительный ответ, преимущественно у особей, которые ранее имели сперм-агглютинины. У бесплодных пар, которым в качестве лебечного средства рекомендовано применение презервативов, через несколько месяцев наблюдается ремиссия антител. При возобновлении контакта со сперматозоидами агглютинины быстро появляются вновь. Таким образом, интравагинальный путь адекватен для индукции вторичного поддерживающего иммунного ответа.

В репродуктивном тракте существуют иммунные механизмы и в генитальном тракте обнаруживаются антитела против различных бактериальных антигенов, вирусов и грибов [Cinader, de Weck, 1976]. Известны случаи, когда антиспермальные антитела можно найти в слизи шейки матки, но не в сперме (см. выше); таким образом, подтверждается мнение, что сперматозоиды могут быть иммуногенны *in situ* в репродуктивном тракте. Однако такие случаи не часты, и низкая частота индукции иммунитета, возможно, объясняется быстрой секвестрацией сперматозоидов, что предотвращает сенсибилизацию иммунокомпетентных клеток.

Вместе с тем сперма может содержать факторы, лимитирующие иммунный ответ. Prekash с соавт. (1976) выделили из семенной плазмы фактор, сильно подавляющий бласттрансформацию лимфоцитов.

¹ В литературных источниках, посвященных вопросам иммунологии, чаще употребляется термин «усиливающий» (усиливающий иммунный ответ, усиливающие антитела). — Прим. ред.

Аллогенные сперматозоиды и механизмы, содействующие фертильности

Beer, Billingham показали, что матка может быть сенсibilизирована аллогенными клетками и сперматозоидами. Таким образом, матка не лишена контакта с иммунной системой. После спаривания с самцами другой генетической линии наблюдается выраженная гипертрофия дренирующих лимфатических узлов. Такого увеличения последних не наблюдается при спаривании с сингенными самцами [Maroni, de Sousa, 1973]. Численность помета и масса фетоплацентарного комплекса значительно больше при несингенных спариваниях [Beer et al., 1975]. Эти исследования весьма интересны и указывают, с одной стороны, на активное вовлечение иммунного аппарата после контакта с аллогенными сперматозоидами. С другой стороны, они означают, что реакция иммунной системы ведет к увеличению численности помета и веса фетоплацентарного комплекса, т. е. она скорее содействует фертильности, чем подавляет ее. Остается установить, встречается ли столь же часто этот феномен, обнаруженный у грызунов, у других видов животных. Необходимы также исследования, чтобы выяснить, в каких условиях нормальная способствующая реакция превращается в реакцию, нарушающую оплодотворяющую способность сперматозоидов и/или вызывающую отторжение плода.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ

Аллергические реакции повышенной чувствительности

В литературе появилось несколько сообщений о нежелательных реакциях у женщин после половых сношений. Halpern с соавт. (1967) описывают случай, в котором после половых сношений повторялась анафилаксия. Реагиновый ответ у этих женщин был обусловлен антителами типа IgE, направленными к богатому сиаловой кислотой гликопротеину семенной плазмы. В другом опубликованном наблюдении острой анафилаксии сенсibilизация, видимо, наступила после контакта со спермой собаки в течение нескольких месяцев [Holden, Sherline, 1973].

Еще в одной статье упоминается о повторяющейся рвоте у женщины после коитуса [James, 1945]. Во всех случаях аллергическая реакция пассивно переносилась сывороткой и, вероятно, была обусловлена антителами типа IgE к компонентам спермы. Эти осложнения, хотя и неприятные, все же не помешали женщинам забеременеть.

Аутоиммунные реакции с другими органами

Только в последние годы исследователи стали наблюдать аутоиммунные реакции с другими тканями у пациентов, в крови которых содержались антиспермальные антитела. Есть основания полагать, что сперматозонды могут иметь общие антигены с другими органами. Irvine с соавт. (1969) указывают, что сыворотка пациентов, страдавших болезнью Аддисона, реагировала со сперматидами и клетками коры надпочечника. Больные, страдающие тяжелой миастенией, имели антитела против сперматогоний и нервной ткани [Kornguth et al., 1970].

Jones с соавт. (1976) отметили, что у бесплодных женщин с циркулирующими в крови спермоиммобилизующими антителами значительно чаще встречались аутоантитела к гладким мышцам, эпителиальным клеткам щитовидной железы, тиреоглобулину, париетальным клеткам, к клеткам коры надпочечников и яичников, чем в контрольных группах, подобранных по возрасту и полу, но без спермоиммобилизующих антител.

Таким образом, риск реакции против других органов, видимо, выше у лиц, имеющих антиспермальные антитела. Однако можно упомянуть, что у мужчин после вазэктомии образуются антитела, по данным литературы, реагирующие только со сперматозоидами, но не с другими тканями, хотя таких мужчин наблюдали в течение ограниченного периода времени.

ЕСТЕСТВЕННЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ДРУГИХ АНТИГЕНОВ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У БЕСПЛОДНЫХ ПАР

Поскольку сперматозоиды «чужеродны» для женщины, основное внимание исследователей привлекали поиски антиспермальных антител у бесплодных пар. В общем в этих сообщениях [см. также Shulman, 1971; Jones, 1974; Behrman, 1975] бесплодие неясного происхождения лишь в небольшом проценте случаев связывается с антиспермальными антителами. Причина бесплодия в других случаях еще не установлена. Вероятно, могут быть найдены антитела и к другим важнейшим антигенам репродуктивной системы, например антигенам блестящей оболочки яйцеклетки, антигенам эмбриональных стадий и компонентам и гормонам плаценты. В настоящее время ведутся исследования в ряде лабораторий с целью выявить возможную роль иммунологических факторов при привычных выкидышах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Beer A. E., Billingham R. E. — Journal of Reproduction and Fertility Suppl., 1974, v. 21, p. 59.

- Beer A. E., Scott J. R., Billingham R. E. — *Journal of Experimental Medicine*, 1975, v. 142, p. 180.
- Behrman S. J. — In: *Progress in Infertility*, 2nd edn., p. 793. Edited by S. J. Behrman and R. W. Kistner. Little, Brown and Co. Boston, 1975.
- Berhman S. J., Buttner-Janusch J., Hegler R. et al. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1960, v. 79, p. 847.
- Boettcher B., Hjort T., Rumke Ph. et al. *Acta pathologica et Microbiologica Scandinavica*, Section C, Suppl., 1977, v. 258, p. 1.
- Boettcher B., Kay D. J. *Andrologie*, 1973, v. 5, p. 265.
- Cinader B., de Weck A. (Eds.). — In: *Immunological Response of the Female Reproductive Tract*, p. 37. Scriptor, Copenhagen, 1976.
- D'Almeida M., Eyquem M. A. — In: *Proceedings of 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction*, p. 432. Bulgarian Academy of Sciences, 1978.
- Franklin R. R., Dukes C. D. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1964, v. 89, p. 6.
- Gall W. E., Millette C. F., Edelman G. M. — In: *Immunological Approaches to Fertility Control; Transactions of the Seventh Karolinska Symposium*, p. 154. Edited by E. Diczfalusy and A. Diczfalusy. Karolinska Institute. Stockholm, 1974.
- Goldberg E. *Journal of Biological Chemistry*, 1972, v. 247, p. 2044.
- Grall G. T., Scheide P., Mettler L. — In: *Proceedings of 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction*, p. 151. Bulgarian Academy of Sciences, 1978.
- Halpern B. N., Ky T., Robert B. — *Immunology*, 1967, v. 12, p. 247.
- Heckman A. M., Rumke P. — In: *International Symposium on Immunology of Spermatozoa and Fertilization*, p. 107, Varna, 1967.
- Holden T. E., Sherline D. M. *Obstetrics and Gynaecology*, 1973, v. 42, p. 138.
- Husted S., Hjort T. *International Journal of Fertility*, 1975, v. 20, p. 97.
- Irvine W. J., Chen M. M. W., Scarth L. *Clinical and Experimental Immunology*, 1969, v. 4, p. 489.
- Isojima S., Koyama K., Kamata T. — In: *Proceedings of 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction* p. 104. Bulgarian Academy of Sciences, 1978.
- James D. W. *Western Journal of Surgery, Obstetrics and Gynecology*, 1945, v. 53, p. 380.
- Jones W. R. — In: *Immunological Approaches to Fertility Control; Transactions of the Seventh Karolinska Symposium*, p. 376. Edited by E. Diczfalusy and A. Diczfalusy. Karolinska Institute, Stockholm, 1974.
- Jones W. R., Ing R. M. Y., Hobbin E. R. — In: *Development of Vaccines for Fertility Regulation*, p. 17. Scriptor, Copenhagen, 1976.
- Kolk A. H. J., Samuel T. — *Biochimica et Biophysica acta*, 1975, v. 393, p. 307.
- Kornguth S. E., Hanson J. C., Chun R. W. M. — *Neurology*, 1970, v. 20, p. 749.
- Maroni E. S., de Sousa M. A. B. — *Clinical and Experimental Immunology*, 1973, v. 13, p. 107.
- Menge A. C. — *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*, 1970, v. 10, p. 171.
- Metz C. B. — *Federation Proceedings*, 1973, v. 32, p. 2057.
- Nakabayashi N., Tyler A., Tyler E. T. *Fertility and Sterility*, 1961, v. 12, p. 544.
- Parish W. E., Carron-Brown J. A., Richards C. B. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1967, v. 13, p. 469.
- Parish W. E., Ward A. — *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, 1968, v. 75, p. 1089.
- Prakash C., Coutinho A., Moller G. — *Scandinavian Journal of Immunology*, 1976, v. 5, p. 77.
- Rao S. S., Sadri K. K. — In: *Proceedings of Sixth International Conference of Planned Parenthood*, p. 313. International Planned Parenthood Federation, London, 1960.

- Rumke P., Vox Sang. (Basel), 1954, v. 4, p. 135.
 Rumke P., Van Amstel N., Messer E. N., Bezemer P. D. — Fertility and Sterility, 1974, v. 25, p. 393.
 Sarkar S. — Journal of Reproductive Medicine, 1974, v. 13, p. 93.
 Schwimmer W. B., Ustay K. A., Behrman S. J. Fertility and Sterility, 1967, v. 18, p. 167.
 Segal S., Tyler E. T., Rao S. et al. — In: Immunologic Factors in Infertility and Sterility. Edited by E. T. Tyler. McGraw-Hill, New York, 1961.
 Shulman S. — Clinical and Experimental Immunology, 1971, v. 9, p. 267.
 Shulman S., Shulman J. F. Fertility and Sterility, 1971, v. 22, p. 633.
 Tyler A., Tyler E. T., Denny P. C. — Fertility and Sterility, 1967, v. 18, p. 153.
 Wilson L. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1954, v. 85, p. 652.

ГЛАВА 3

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ВАЗЭКТОМИИ

Программы регуляции численности семьи часто предусматривают вазэктомию, эта операция производится почти в массовых масштабах. Она имеет ряд логических преимуществ. Эта операция относительно проста и отличается высоким отношением стоимости к эффекту. Это надежный, длительный и во многих случаях необратимый способ ограничения фертильности у мужчин. (Последнее свойство является также его недостатком). Как в экономически развивающихся, так и в экономически развитых странах выполнены миллионы вазэктомий, и частота осложнений оказалась очень низкой по сравнению с побочными явлениями при использовании других контрацептивных методов. В последние годы появился ряд статей, в которых отмечается наличие антител у довольно большого числа мужчин, перенесших вазэктомию. В этой главе мы рассмотрим эти данные и попытаемся установить в свете имеющейся информации, каковы могут быть ближайшие и отдаленные осложнения, возникающие в результате иммунного ответа.

ЧАСТОТА ОБРАЗОВАНИЯ СПЕРМОРЕАГИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ У МУЖЧИН, ПЕРЕНЕСШИХ ВАЗЭКТОМИЮ

У ряда здоровых мужчин в крови содержатся спермагглютинины (всегда в низком титре), однако частота выявления антител к сперме у мужчин, перенесших вазэктомию, чрезвычайно высока, что вызывает известную тревогу. По данным литературы, такие антитела образуются через несколько месяцев после вазэктомии примерно у 50—75 % оперированных [Wartman, 1975]. Одно из первых наблюдений принадлежит

Phadke, Padukone (1964). Они обнаружили спермагглютинины у 8 из 25 мужчин, оперированных от 2 до 20 лет назад. Ansbacher (1971) и Ansbacher с соавт. (1972) наблюдали довольно большое число мужчин в течение 6—12 мес после вазэктомии. Через 6 мес спермагглютинины отмечались в крови у 26 из 48 мужчин (54,2 % случаев), тогда как до операции такие антитела были найдены только у одного из них. В 31,3 % случаев в крови оперированных появились антитела, иммобилизующие сперму. Антитела (как агглютинины, так и иммобилизующие) оставались в циркулирующей крови через 12 мес после операции. В некоторых случаях (5 из 27) титры антител повышались. По данным Shulman (1974), спермагглютинирующие антитела обнаруживались в 63,7 % случаев через 6 мес после вазэктомии, тогда как до операции они выявлялись только в 9 %. Howard, James (1973) указали, что спермагглютинины имеются у 32,6 % мужчин, исследованных через 3—6 мес после вазэктомии, у которых они отсутствовали до операции. Halim, Antoniu (1973) обнаружили спермагглютинирующие или цитотоксические антитела через 18 мес после операции только в 8 % случаев при наблюдении 100 мужчин после вазэктомии.

Частота выявления цитотоксических антител, по данным различных авторов, колеблется от 27 % [Ansbacher et al., 1972] до 35,3 % [Mumford et al., 1975]. Один исследователь обнаружил спермоцитотоксические антитела через 12 мес после вазэктомии у 75 % оперированных [Henry, 1973]. Tung (1975) наблюдал в динамике 114 человек до вазэктомии, 112 через 2 мес после нее и 71 через 6—9 мес. Для выявления антител к антигенам спермы применялся метод иммунофлюоресценции. Антитела, реагирующие с антигенами спермы, ядра, хвоста и отдельными акросомальными антигенами сперматозоидов, через 6—9 мес после вазэктомии были выявлены у мужчин в 55 % случаев; до вазэктомии они были найдены у 3 %, через 2 мес после операции — у 25 %. Эти данные достаточны для того, чтобы убедиться, что вследствие вазэктомии в организме действительно вырабатываются антитела к сперме. К тому же частота появления антител довольно высока.

КИНЕТИКА ПОЯВЛЕНИЯ, ИСЧЕЗНОВЕНИЯ АНТИТЕЛ И ИХ СТОЙКОСТИ

Образование антител к сперме происходит довольно быстро после вазэктомии. Ansbacher (1974) нашел антитела в сыворотке через 7—11 дней после двусторонней перевязки семявыносящего протока у мужчин. Alexander с соавт. (1974) обнаружили комплементсвязывающие антитела в сыворотке мужчин и макак резусов через 2 нед после вазэктомии.

Hellema с соавт. (1978) полагают, что как агглютинины,

так и иммобилизующие антитела появляются в сроки от 6 нед до 3 мес после операции. Число положительных случаев продолжает увеличиваться примерно до 6 мес, в дальнейшем число пациентов со спермагглютинидами и/или спермоиммобилизующими цитотоксическими антителами стабилизируется. Однако титры антител продолжают нарастать в сроки до 12—18 мес после вазэктомии. Пик спермоиммобилизующих антител достигается примерно через 12 мес, а спермагглютинирующих — через 18 мес [Ansbacher, 1974]. Со временем титр антител снижается. Спермоиммобилизующие антитела исчезают быстрее, чем спермагглютинины, которые сохранялись в 38,9 % случаев (у 7 мужчин из 18), прослеженных на протяжении 3 лет после вазэктомии. Титры спермоиммобилизующих антител постепенно сошли на нет через 12 мес, и через 18 и 36 мес только в одном случае из 17 они были обнаружены в небольших количествах. В части случаев антитела могут сохраняться до 20 лет [Phadke, Padukone, 1964].

ТИПЫ ВЫРАБАТЫВАЕМЫХ АНТИТЕЛ

Для изучения антител в сыворотке у мужчин, перенесших вазэктомию, применялись три типа тестов.

Определялись антитела: 1) спермагглютинирующие, 2) спермоиммобилизующие и 3) спермоцитотоксические. Последние два типа антител, видимо, более тесно связаны с бесплодием. Антитела образуются примерно у 33 % лиц после вазэктомии. Максимальный титр антител в большинстве случаев достигается через 12 мес, и примерно к 18 мес титры снижаются до уровня, при котором антитела уже не выявляются. Однако в некоторых случаях (около 5—6 % случаев) антитела сохраняются длительное время.

Пользуясь методом непрямой иммунофлуоресценции, Tung (1975) разделил антитела, обнаруженные в сыворотке у мужчин после вазэктомии, на семь типов. Пять из них реагировали с доступными антигенами спермы и два — с антигенами, которые проявляются после обработки сперматозоидов детергентами и протеолитическими ферментами. Из первой подгруппы два типа антител реагировали с акросомами, причем один давал диффузную, а другой — пятнистую флуоресценцию. Другие поверхностные антигены, против которых у мужчин, перенесших вазэктомию, вырабатывались антитела, можно было обнаружить в экваториальной области сперматозоида, в постакросомальном колпачке и в основной части хвоста. После обработки сперматозоидов детергентами и трипсином реакции с антителами появились в ядре и средней части сперматозоида.

В связи с данными о локализации антител у лиц, не подвергавшихся вазэктомии, была выдвинута гипотеза, согласно

которой эта операция ведет к образованию трех специфических типов антител: 1) дающих пятнистое окрашивание с акросомой, 2) реагирующих с основной частью хвоста и 3) реагирующих с ядром.

ЭТИОЛОГИЯ

В предыдущей главе упоминалось, что человек не толерантен к антигенам спермы ввиду появления сперматозоидов в поздней стадии онтогенеза и их изоляции от иммунной системы. Таким образом, можно допустить, что при экстравазации сперматозоидов в интерстициальную ткань, лимфатические сосуды или кровеносные капилляры они входят в контакт с иммунокомпетентными клетками и таким образом индуцируют иммунный ответ. Phadke описывает внутрипросветный (внутриполостной) фагоцитоз сперматозоидов у пациентов, страдающих азооспермией и с перевязанными семявыносящими протоками. У мужчин после вазэктомии часто образуются гранулемы [Schmidt, Morris, 1973]. Видимо, это воспалительная реакция на экстравазацию спермы; возможно, что гранулемы являются очагами, порождающими аутоиммунные реакции. Было высказано интересное предложение о том, как бороться с образованием гранул. Freeman, Coffey (1974) предлагали имплантировать подкожно тестостерон для подавления сперматогенеза перед операцией. Кроме того, у крыс испытано местное нагревание семенников перед вазэктомией для того, чтобы снизить частоту образования сперматозоидных гранул [Voglmaier, 1975].

Возможно, что иммунный ответ не ограничивается образованием спермореагирующих антител. Есть основания полагать, что операция вызывает клеточный иммунный ответ. t'Hart (1978) инкубировал с антигенами спермы лимфоциты, взятые от мужчин до и после вазэктомии. Изучалась цитотоксичность образующихся в результате инкубации продуктов. Оказалось, что индекс цитотоксичности почти всегда был равен нулю для продуктов лимфоцитов, взятых до вазэктомии, но через 8 нед после нее составлял для продуктов лимфоцитов оперированных около 20.

ЗНАЧЕНИЕ ИМУННОГО ОТВЕТА, ВЫЗЫВАЕМОГО ВАЗЭКТОМИЕЙ

Влияние на семенники

У мужчин, собак, обезьян и морских свинок после вазэктомии изучались гистологические изменения семенных канальцев [Alexander, 1972; Derrick et al., 1974; Vare, Bansal, 1974]. Обычно вначале появлялись дегенеративные изменения, но со временем наступало восстановление и сперматогенез воз-

обновлялся, по крайней мере в части случаев. В течение первых 2—3 нед сперматогенез происходит нормально и в канальцах накапливаются сперматозоиды. Размеры яичек могут немного увеличиваться вследствие увеличения просвета и диаметра семенных канальцев, но через 1—3 мес после перевязки появляются дегенеративные изменения и яички становятся мягкими [Vare, Bansal, 1973]. Часть канальцев замещается фиброзной тканью, но клетки Лейдига не изменяются. Derrick с соавт. (1974) описали постепенную остановку сперматогенеза между 3-й и 6-й недель. В период между 6-й и 12-й недель вновь появлялись фигуры мейоза, но сперматозоидов не было найдено. Сперматогенез восстанавливался между 100-м и 300-м днем после вазэктомии. На основании 5-летнего наблюдения на макаках резусах Alexander (1972) пришел к выводу, что у этих животных после вазэктомии сперматогенез продолжается, хотя и пониженными темпами.

Повреждение семенников, видимо, вызывается не только гуморальными антителами, но и клеточными иммунными реакциями. Описана инфильтрация интерстициальной ткани лимфоцитами и плазмócитами после перевязки семявыносящего протока. Abdel Aal с соавт. (1976) указывают, что в 5 случаях обструктивной азооспермии зародышевые клетки содержали интенсивно окрашивающиеся связанные антитела. Наблюдалась остановка созревания главным образом на стадии сперматиды. Описаны также дезорганизация, отделение незрелых клеток и вакуолизация клеток Сертоли. Hogan (1975) полагает, что старение семенников вызывается окклюзией его выводящих протоков, а не антителами и клеточным иммунным ответом.

Влияние иммунного ответа на эндокринные профили

В трех недавно опубликованных сообщениях описывается изменение уровня гонадотропинов и половых стероидов. Однако значение этих данных пока еще не известно.

При совместных исследованиях, проведенных в Каролинской больнице и Мексиканском Институте Социального Обеспечения, Saksena с соавт. (1975) провели наблюдения за 20 пациентами до вазэктомии и через 1; 3 и 6 мес после нее. От каждого обследуемого на каждой стадии наблюдения забирали минимум два образца крови и спермы в разное время. Вазэктомия вызывала высокодостоверное снижение уровня дегидротестостерона в семенной плазме без изменения уровня тестостерона и андростерона. В крови после операции концентрация андростендиона и дегидроэпиандростерона снижалась, но уровень тестостерона, дегидротестостерона и прегненолона существенно не менялся.

В другом случае было обследовано 56 мужчин до вазэктомии, через 6 мес и 2 года после нее [Smith et al., 1976]. Через 6 мес средний уровень тестостерона плазмы был повышен, так же как и уровень лютеинизирующего гормона. Концентрация эстрадиола была снижена, а уровень ФСГ не изменился. Через два года отмечено небольшое повышение уровня ФСГ в плазме, тогда как содержание эстрадиола вернулось к исходному. Уровень тестостерона и ЛГ в плазме оставался высоким, но все же был меньше, чем через 6 мес после вазэктомии. Исследователи пришли к выводу, что, хотя установленные ими гормональные изменения после вазэктомии и были статистически достоверными, они не выходили за пределы нормы, установленной для мужчин, наблюдаемых в этой лаборатории.

В третьем случае [Kobrinisky et al., 1976] было обследовано 11 фертильных мужчин за 4 нед до вазэктомии и через различные сроки до 40 нед после нее. На первой неделе после вазэктомии наблюдалось небольшое, но статистически достоверное снижение ФСГ. Был снижен также индекс свободного тестостерона. Через 2 нед индексы ЛГ, тестостерона и свободного тестостерона стабилизировались и были в пределах нормы, а среднее содержание ФСГ было несколько ниже, чем до вазэктомии.

На основании результатов этих исследований можно заключить, что гормональные изменения непостоянны. Секретция большинства гормонов носит пульсирующий колебательный характер. Описаны также суточные ритмы секреции. Возможно также, что у обследуемых кровь забиралась в разное время. Кроме того, колебания уровня гормонов могли зависеть от стрессов и других факторов; необходима дальнейшая работа, чтобы подтвердить гипотезу, что вазэктомия действительно вызывает важные гормональные сдвиги.

СВЯЗАНА ЛИ ВАЗЭКТОМИЯ С ДРУГИМИ АУТОИММУННЫМИ ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ РЕАКЦИЯМИ?

Имеются теоретические указания, что семенники и головной мозг содержат перекрестно реагирующие антигены. Имеются также антигены, общие для спермы и коры надпочечников. Таким образом, можно предположить, что если будет вызван иммунный ответ на эти антигены, то он может привести к таким осложнениям, как аутоиммунный энцефаломиелит или воспаление надпочечников. Однако у лиц, перенесших вазэктомию, таких осложнений пока не описано. Вполне вероятно, что иммунный ответ при вазэктомии вызывается к «частным» антигенам, а не к антигенам, которые содержатся и в других тканях.

Некоторую тревогу вызывает сообщение об амилоидозе у морских свинок, иммунизированных спермой. Сперматозоид-

ные гранулемы образуются у довольно многих мужчин после вазэктомии. Возможно, что они служат очагом хронического воспаления, который может привести к рубцовым изменениям и даже вторичному амилоидозу [Tung, 1976]. Если это действительно происходит, то есть основания тревожиться, так как амилоидоз — болезнь смертельная.

Приведенные до настоящего времени исследования, хотя их немного и они охватывают короткий период времени, не выявили аутоиммунных реакций на другие ткани, кроме сперматозоидов, после вазэктомии. Howard, James (1973) обследовали 14 мужчин, у которых после вазэктомии появились спермагглютинирующие антитела. Из них у 10 не было никаких признаков аутоиммунных тканевых реакций, а у других 4 аутоиммунные реакции можно было объяснить заболеваниями, имевшимися до операции. Bigazzi, Rose (цит. по Wartman, 1975) не обнаружили антител к клеткам Лейдига и к клеткам коры надпочечников в сыворотках 150 мужчин после вазэктомии. Barnes (1975) обследовал более 500 таких мужчин и пришел к выводу, что среди них частота выявления аутоантител, если не считать антитела к сперме, не повышена. Однако Roberts (1970), единственный из авторов, отмечает повышенную частоту таких системных заболеваний неясного происхождения, как тромбофлебит, артрит и рассеянный склероз, через 1—2 года после вазэктомии. В недавно опубликованной работе отмечается увеличение количества вызванных диетой атероматозных отложений в кровеносных сосудах обезьян после вазэктомии [Alexander, Clarkson, 1978].

ВОССТАНАВЛИВАЕТСЯ ЛИ ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПОСЛЕ АНАСТОМОЗА?

Kar, Phadke (1975) описывают опыты с вазэпидидимальным анастомозом у 281 больного, страдавшего обструктивной азооспермией. Операция была успешной в 48,75 % случаев. Однако беременность наступила только в 14,23 % случаев. У мужчин, успешно перенесших операцию, число сперматозоидов в эякуляте после вмешательства было обычно низким и только в 19,9 % случаев превышало 20 млн/мл. Сроки появления сперматозоидов в эякулятах были различны, но обычно они появлялись в течение первых 3 мес. У 12,4 % мужчин сперматозоиды появились только через год и позднее. Двенадцать больных (7,11 %) через некоторое время вновь стали страдать азооспермией.

Общие наблюдения хирургов указывают на то, что операции наложения анастомоза успешны в 50—70 % случаев. Число сперматозоидов у многих больных остается ниже 20 млн/мл и фертильность восстанавливается только в 25 % случаев, если судить по наступлению беременности у жен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abdel Aal H., Abdel Hafiz A., Kandil O., Edl Tonsy H.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1976, v. 47, p. 117.
- Alexander N. J.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1972, v. 31, p. 399.
- Alexander N. J., Clarkson T. B.* — Science, 1978, v. 201, p. 538.
- Alexander N. J., Wilson B. J., Patterson G. D.* — Fertility and Sterility, 1974, v. 25.
- Ansbacher R.* — Fertility and Sterility, 1971, v. 22, p. 629.
- Ansbacher R.* — Contraception, 1974, v. 9, p. 227.
- Ansbacher R., Kwok Keung-Yeung, Wurster J. G.* — Fertility and Sterility, 1972, v. 23, p. 640.
- Barnes R. D.* — In: Abstracts of Papers of 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction. Varna, Bulgaria, 1975, p. 80. Institute of Biology and Pathology of Reproduction, Sofia, Bulgaria, 1975.
- Derrick F. C., Glover W. L., Kanjuparamban Z. et al.* — Fertility and Sterility, 1974, v. 25, p. 649.
- Freeman C., Coffey D. S.* — Fertility and Sterility, 1974, v. 25, p. 276.
- Halim A., Antoniu D.* — British Journal of Urology, 1973, v. 25, p. 559.
- Hart H.* — In: Proceedings 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction, p. 415. Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 1978.
- Hellema H., Samuel T., Rumke P.* Sperm autoantibodies after vasectomy. — In: Proceedings 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction, p. 387. Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 1978.
- Henry J. B.* — Journal of the American Medical Association, 1973, v. 225, p. 642.
- Horan A. H.* — Fertility and Sterility, 1975, v. 26, p. 317.
- Howard J. H., James L. P.* — Journal of Urology, 1973, v. 109, p. 76.
- Kar J. S., Phadke A. M.* — Fertility and Sterility, 1975, v. 26, p. 743.
- Kobrinsky N. L., Jeremy S. D., Winter S. D. et al.* — Fertility and Sterility, 1976, v. 27, p. 152.
- Mumford D. M., Farrow S., Gordon H. L. et al.* — In: Control of Male Fertility. Edited by J. J. Sciarra, C. Markland and J. J. Special. Harper. Row, New York, 1975.
- Phadke A. M., Padukone K.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1964, v. 7, p. 163.
- Roberts H. J.* — Letter to the Editor. Perspectives in Biology and Medicine, 1970, v. 14, p. 176.
- Saksena S. K., Purvis K., Cekan Z. et al.* — Acta endocrinologica (Kbh.). Suppl., 1975, v. 199, p. 294.
- Schmidt S. S., Morris R. R.* — Fertility and Sterility, 1973, v. 24, p. 941.
- Shulman S.* — In: Advances in Voluntary Sterilization: Proceedings of the 2nd International Conference, p. 86. Edited by M. E. Schima, I. Lubell, J. E. Davis, E. Connell and D. W. K. Cotton. Excerpta Medica, Amsterdam, 1974.
- Smith K. D., Tcholakian R. K., Chowdhury M., Steinberger E.* — Fertility and Sterility, 1976, v. 27, p. 145.
- Tung K. S. K.* — Clinical and Experimental Immunology, 1975, v. 20, p. 93.
- Tung K. S. K.* Development of Vaccines for Fertility Regulation, p. 127. Scriptor, Copenhagen, 1976.
- Vare A. M., Bansal P. C.* — Fertility and Sterility, 1974, v. 25, p. 256.
- Voglmayr J. K.* — Biology of Reproduction, 1975, v. 13, p. 453.
- Wartman Judith.* Population Reports (Washington), Series D, 1975, 2, 31.

ИММУНОБИОЛОГИЯ БЕРЕМЕННОСТИ**ВСТУПИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ**

Особенность многоклеточных организмов заключается в том, что они распознают «свои» и «не свои» вещества и с помощью иммунного аппарата отторгают все чужеродное. Однако плод млекопитающих, который получает 50 % генетической информации от отца и который чужероден для матери, вынашивается до конца беременности. Очевидно, это возможно благодаря особому защитному механизму.

На эту тему написан ряд прекрасных информативных обзоров [Medawar, 1953; Kirby et al., 1961; Behrman, Koren, 1968; Currie, 1969; Bagshawe, 1970; Beer, Billingham, 1971; Beer et al., 1975; Edwards et al., 1975; Billington, 1976; Voisin, 1979]. По этим работам можно познакомиться с теориями, доминировавшими среди ученых в последние десятилетия. Некоторые теории были отброшены, другие же, как выяснилось, не могут объяснить весь этот феномен. Механизм защиты полностью не известен. Видимо, в нем участвует несколько факторов. Очевидно, в процессе эволюции появились многие защитные механизмы, обеспечивающие успешное вынашивание плода, необходимого для сохранения и размножения вида.

В работах различных исследователей, осуществленных в этой области, нередко встречаются противоречия. Иногда их можно объяснить плохим выбором методов. Однако при внимательном анализе мы видим, что небольшие различия в экспериментальной методике часто приводили к большим расхождениям результатов. Например, многие исследователи наблюдали подавление бласттрансформации периферических лейкоцитов под действием фитомитогенов во время беременности. В столь же большом числе сообщений этого подавления не отмечается. Обратившись к этим работам, можно убедиться, что исследователи, названные выше, культивировали клетки в средах, содержащих аутологичные сыворотки беременных, а в исследованиях последнего времени всегда использовались отмытые клетки, культивировавшиеся в средах с нормальной сывороткой крови АВ группы. Этот фактор редко учитывался в выводах и при попытках объяснить противоречия.

Точно так же между сторонниками специфической иммунзащиты и теми, кто пытался объяснить сохранение плода общим неспецифическим угнетением иммунного ответа у беременных, разгорелись острые споры. Невольно вспоминается рассказ о четырех слепых, которые пытались описать слона; каждый из них говорил правду, но правды эти были

разными, в зависимости от того, как они воспринимали прикосновение к разным частям тела (конечностям) слона. В этой главе я приведу основания, позволяющие думать, что плод защищается в силу совместных действий многочисленных факторов. Некоторые из них имеют отношение к проблеме неотторжения (как при опухолях), а другие же специфичны для системы мать — плод.

На основании данных, приведенных в этой главе, можно сделать несколько выводов. Если поверить блестящим экспериментам Beer, Billingham, то женский репродуктивный тракт далеко не инертен в иммунологическом отношении. Однако в норме его иммунный ответ — облегчающего типа [Voisin, 1979], а не типа отторжения. Почему и как он действует таким образом? Этот вопрос имеет прямое отношение к иммунологии беременности и к поискам способов местной иммунизации к антигенам спермы в целях контрацепции.

СОДЕРЖИТ ЛИ ЭМБРИОН В РАННЕЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ АНТИГЕНЫ, КОНТРОЛИРУЕМЫЕ ОТЦОВСКИМ ГЕНОМОМ?

Понятно, что определенные данные пока получены только при исследованиях на мышах. Сильные антигены гистосовместимости H-2 проявляются у эмбриона в возрасте 6¹/₂ сут [Edidin et al., 1974]. Сыворотка, содержащая антитела к отцовским антигенам H-2, сильно реагирует с бластоцистами, развитие которых было экспериментально задержано [Nakansson, 1975]. Через 14 ч после того, как была вызвана имплантация эстрогенами, связывание антител с этими антигенами почти полностью прекратилось, поэтому можно полагать, что во время имплантации отцовские антигены гистосовместимости на бластоцисте исчезают или маскируются. Результаты других исследований также указывают на то, что в разных стадиях развития на поверхности эмбриона появляются и исчезают различные антигены. В дробящемся эмбрионе проявляются как аллоантигены не H-2, так и по крайней мере один изоантиген тератомы [Johnson, 1975]. Согласно данным, полученным Johnson, антигены H-2 не распознаются. Трофобласт бластоцисты в возрасте 3¹/₂ сут содержит антиген тератомы в низких количествах. Эктоплацентарная ткань в возрасте 7¹/₂ сут не имеет антигена тератомы. Во всех стадиях развития в трофобластах проявляются видоспецифические антигены, являющиеся неотъемлемой частью мембраны.

В общем эти исследования указывают на наличие изо- и аллоантигенов на поверхности раннего эмбриона. Они свидетельствуют также о динамическом состоянии находящихся на мембране компонентов, т. е. в ранние сроки в них происходят количественные и качественные изменения. Эти изменения могут ослабить афферентную дугу развития эффектив-

ного иммунного ответа на антигены в этом периоде, прежде чем начнут действовать другие барьеры. Быстрые перемены служат также механизмом, защищающим бластоцисту от эффекторного компонента иммунитета, если он развивается в ответ на какой-нибудь антиген. Плотность антигенных детерминант увеличивается с возрастом, хотя и с разной скоростью в различных тканях.

Блестящая оболочка образует защитный слой вокруг яйцеклетки. Она сохраняется от оплодотворения почти до стадии имплантации и непроницаема для иммунных клеток. Анти-тела, которые могли бы образоваться к оплодотворенной яйцеклетке и раннему эмбриону, не могут пройти через этот слой. Благодаря таким свойствам блестящую оболочку можно рассматривать как щит для зиготы и для раннего эмбриона, защищающий от иммунного аппарата как в отношении эфферентного действия, так и в отношении способности сенсibilизировать материнскую иммунную систему.

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ МАТЕРИ АНТИГЕНАМИ ПЛОДА

Имеются убедительные указания на то, что во время беременности женский организм сенсibilизируется антигенами плода и плаценты. Youtanapikorn с соавт. (1974) наблюдали положительный клеточный иммунный ответ на специфические плацентарные антигены к 4—5-му месяцу беременности. Этот ответ определяли по выработке фактора, ингибирующего миграцию макрофагов. У первородящих женщин эти реакции не выявлялись в течение первого триместра беременности. Материнские лимфоциты, взятые от женщин между 32-й и 42-й неделями беременности, были способны лизировать клетки трофобласта, выращенные в монослойных культурах [Taylor et al., 1975]. Клетки, взятые в более раннем периоде беременности, например, между 8-й и 14-й неделями, были лишены этой способности. Аналогичные результаты получены в экспериментах с животными других видов.

Селезеночные клетки беременных саламандр, в отличие от клеток небеременных животных, были цитотоксичны *in vitro* и вызывали диссоциацию эпидермальных клеток собственных эмбрионов [Voisin, 1979].

Таким образом, в материнском организме индуцируется клеточный иммунный ответ на антигены плода, однако он возникает только через несколько месяцев после начала беременности. Эту задержку можно объяснить следующими факторами:

1. Поздним появлением (и сохранением) предполагаемых антигенов.
2. Задержкой в проникновении их в материнский иммунный аппарат.

3. Относительной инертностью иммунной системы матери к этим антигенам в начале беременности.

Имеются экспериментальные данные, исключаящие последнюю гипотезу.

Сейчас можно поставить следующий вопрос. Если у матери есть лимфоциты, специфически сенсибилизированные к трофобластам и клеткам плода, и если они могут вырабатывать лимфокины, лизировать клетки и оказывать цитотоксический эффект *in vitro*, то почему они не повреждают плод *in vivo*? Отчасти ответ известен. Можно назвать ряд защитных факторов. Первый из них, возможно, заключается в особых свойствах плода и его особых взаимоотношениях с организмом матери. Вторым фактором является защита клетки-мишени от лизиса и от цитотоксического действия сенсибилизированных клеток антителами. В экспериментах, проведенных Voisin с соавт., материнская сыворотка подавляла цитотоксическое действие сенсибилизированных клеток селезенки беременных животных на эпидермальные клетки эмбрионов.

Во многих исследованиях есть данные, указывающие на выработку антител к антигенам трофобласта. При помощи методов иммунофлюоресценции на базальной мембране трофобласта были обнаружены иммуноглобулины, которые можно было элюировать буферами с высоким содержанием соли и низким рН [McCormick et al., 1971]. Есть мнение, что антитела, связанные с трофобластом, направлены против актиноподобных структур трофобласта [Faulk et al., 1975]. Интересно, что они вступают в перекрестную реакцию с такими же структурами лимфоцитов. Другие исследователи также получили иммуноглобулины путем элюции из женской [Benneau et al., 1973] и мышинной плаценты [Voisin, Chaouat, 1974] в условиях, вызывающих диссоциацию комплексов антиген — антитело.

Другим наглядным примером сенсибилизации матери антигенами плода является гипертрофия дренирующих лимфатических узлов и парааортальных узлов после спаривания мышей с генетически аллогенным самцом [Beer et al., 1975]. Этот ответ отсутствует при спаривании с сингенными самцами.

ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ МАТКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИ ПРИВИЛЕГИРОВАННЫМ ОРГАНОМ?

Возможности иммунизации

Иммуногенетическая несовместимость между организмом матери и плодом ведет как к клеточному, так и к гуморальному иммунным ответам, как это следует из сказанного выше. Эксперименты, проведенные Beer, Billingham, Scott (1975), вновь показали на способность рога матки давать специфи-

ческие и локализованные реакции повышенной чувствительности. В контралатеральные рога матки грызуна вводили клеточные суспензии (лимфоцитов, эпидермальных клеток или отмытых эпидидимальных сперматозоидов) от аллогенных и сингенных доноров.

Через 3 нед вводили провоцирующие количества клеток того же или противоположного генотипа и учитывали реакцию через 48 ч. В рогах матки, куда первоначально были введены аллогенные клетки, наблюдалась воспалительная реакция при введении тех же клеток, тогда как в рогах матки, куда первоначально вводили сингенные клетки, никакого эффекта не наблюдалось. Реакция была локализованной и не распространялась на контралатеральный рог. Ткань была воспалена, отечна и инфильтрирована лейкоцитами. Сенсибилизация грызуна ортотопическим кожным аллотрансплантатом не вызывала в матке местной реакции повышенной чувствительности замедленного типа. Воспалительная реакция вызывалась также спариванием с аллогенным самцом, клетки которого были ранее использованы для сенсибилизации матки. Эти эксперименты показывают, что матка может быть сенсибилизирована иммуногенетически чужеродными клетками. Кроме того, сенсибилизация ограничивается только тем рогом матки, который подвергался иммунизации. Клетки памяти, возникшие в результате предыдущей иммунизации, остаются на месте. Местная повышенная чувствительность не передавалась матке при системной иммунизации.

Матка как орган эффекторного действия иммунного аппарата

Трансплантационный иммунитет может быть вызван и может проявиться в матке обычным способом. Simmons, Russell (1963) трансплантировали в матку паратиреоидную ткань и установили, что последняя отторгается, если она является аллогенной. Гомологичные опухоли, пересаженные в матку небеременных грызунов, беременных и ложнобеременных животных, отторгались, если животные были предварительно сенсибилизированы к этим опухолям [Schlesinger, 1962].

Аллогенные кожные трансплантаты, помещенные в просвет матки, отторгались так же быстро, как и при ортотопической пересадке в других локализациях при условии, что эндометрий находился в пролиферативной фазе [Beer et al., 1975]. Если пересадки осуществлялись у крысы в предимплантационный период беременности или при ложной беременности, то отторжение аллотрансплантатов иногда задерживалось. Таким образом, децидуальная ткань оказывает, возможно, слабое защитное действие на эфферентной дуге иммунного ответа. Она может также замедлить сенсибилизацию реципиента к перенесенным антигенам.

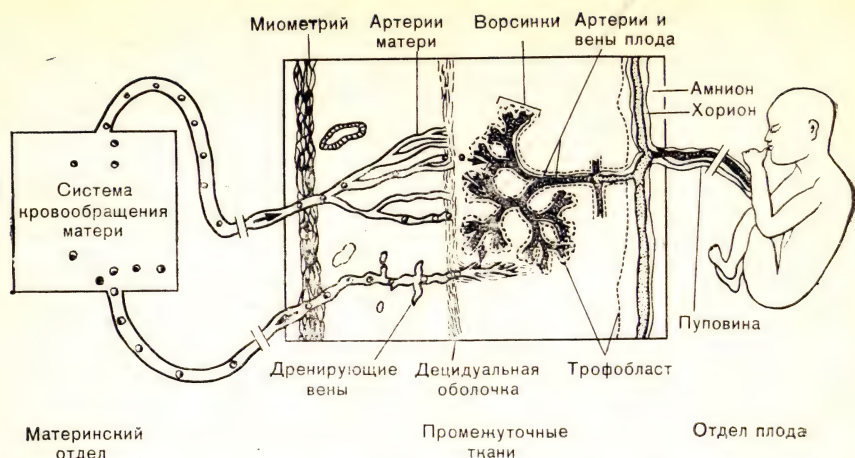


Рис. 5. Анатомическое разделение систем кровообращения матери и плода. Интерфаза образована трофобластом и децидуальной тканью.

ТРОФОБЛАСТНЫЙ БАРЬЕР

Пограничные ткани организма матери и плода имеют анатомическое строение, защищающее плод и обеспечивающее его сохранность как аллотрансплантата. При эктопической пересадке родительских (отцовских) тканей в какое-либо другое место иммунная система матери может отторгать их, но в матке, где эти ткани имплантируются особым способом, отторжения не происходит. Таким образом, структурная организация плода в чреве матери определяет ряд специфических особенностей (рис. 5).

Плод омывается амниотической жидкостью и через пупочные артерии и вену соединяется с плацентой. Плацента главным образом с помощью трофобласта, эпителиальной ткани плодного происхождения образует сплошной единый барьер между тканями организма матери и плода. Трофобласт примыкает к децидуальной ткани на значительной площади — до 15 м² у 20-недельного плода человека. Системы кровообращения организма матери и плода полностью разделены, и обмен различными компонентами происходит через трофобласт. Если бы этой дихотомии не существовало, то поступление клеток крови плода в систему кровообращения организма матери, несомненно, привело бы к иммунологическому хаосу.

Трофобласт резистентен к иммунологическому отторжению. Это его свойство доказано рядом экспериментальных исследований. Simmons, Russell (1962) пересаживали мышинные эмбрионы в возрасте 7½ сут под почечную капсулу реципиентов материнской линии, предварительно иммунизированной

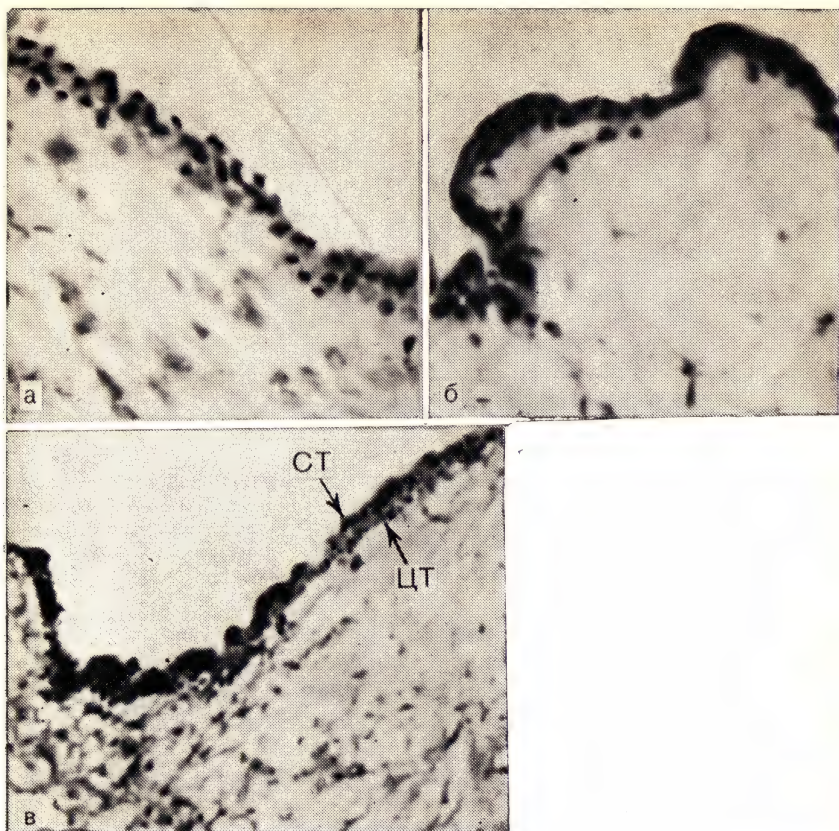


Рис. 6. Устойчивость синцитиотрофобласта к физическим стрессам и внешним воздействиям. Синцитиотрофобласт не повреждается в гипотонической среде. а, б — окрашенные гематоксилин-эозином срезы субтермальных ворсинок (8 нед беременности) и после 4-часового погружения в изотонический (а — 0,295 осмоль) или гипотонический (б — 0,055 осмоль) растворы. в — субтермальные ворсинки, окрашенные ШИК, через 24 ч после погружения в гипотонический раствор. Следует обратить внимание на сохранность синцитиотрофобласта (СТ), а также цитотрофобласта (ЦТ); в то же время отмечается массивное разрушение внутренних клеток.

ных тканевыми антигенами отцовской линии. Благодаря использованию в качестве реципиентов животных материнских линий можно было не беспокоиться о случайном переносе клеток материнского происхождения, которые рассматривались бы как «свои» организмом самки. Мышиный эмбрион в возрасте $7\frac{1}{2}$ сут включает, кроме собственной ткани, предшественников трофобласта (эктоплацентарный конус). Пересаженная эмбриональная ткань в этом трансплантате полностью разрушалась через 7 дней, тогда как трофобластная

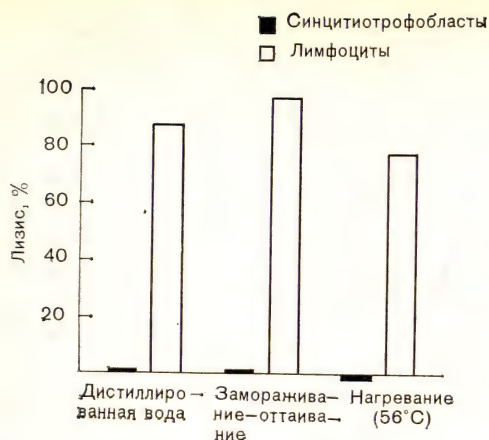


Рис. 7. Устойчивость синцитиотрофобласта против физических стрессов и внешних воздействий. Гипотонический стресс, замораживание и оттаивание (3 раза), нагревание при 56°C в течение 1 ч оказывали минимальное действие на СТ в отличие от лизиса таких клеток, как лимфоциты, при оценке по освобождению ^{51}Cr из меченых клеток.

ткань активно пролиферировала. На эти элементы у реципиента почти не наблюдалось клеточной реакции. Трофобластная ткань подвергалась инволюции, прожив примерно 12—13 дней, как и у генетически совместимых реципиентов. Эти исследования, а также ряд других работ указывают на иммунологически привилегированное состояние трофобласта. Можно ли объяснить это особое свойство трофобласта?

Здесь мы можем отметить ряд факторов.

1. Эти клетки несут на себе высокий отрицательный заряд, контакт их с лимфоцитами возможно минимален вследствие действия сил электрического отталкивания. Возможно, этим объясняется их низкая способность к сенсibilизации (низкий сенсibilизирующий потенциал), а также анергия к эфферентному действию сенсibilизированных клеток.

2. Электронно-микроскопические и гистологические исследования указывают, что трофобласт окружен слоем аморфного фибриноидного материала толщиной 0,1—2 мкм [Bradbury et al., 1970]. Происхождение этого материала не вполне ясно. Возможно, что он образуется трофобластом или исходит из децидуальной ткани. Он состоит из мукополисахаридов. Вещества этого рода были обнаружены также в межклеточном матриксе соединительной ткани защечного мешка хомяка; возможно, они ответственны за иммунологически привилегированные условия для трансплантатов, пересаженных в защечный мешок.

Хрящ — еще одна ткань, резистентная к трансплантационному иммунитету, также имеет матрикс с аналогичными

зико-химическими свойствами.

3. Cuggie с соавт. (1968) установили, что трофобласты становятся иммуногенными после обработки нейраминидазой. Этот результат можно было объяснить: а) снижением отрицательного поверхностного заряда на этих клетках благодаря отщеплению групп сиаловой кислоты или б) раскрытием антигенных детерминант, замаскированных и прикрытых сиаломуцинами.

4. Синцитиотрофобласт (СТ) представляет собой поразительно устойчивую ткань, выдерживающую обработку, обычно гибельную для других клеток. СТ не лизируется в гипотонических средах и даже в воде при погружении на срок до 24 ч, он не распадается также при умеренных температурных шоках, замораживания и оттаивании [Paul et al., 1979]. Эти необычайные физико-химические свойства мембран могут объяснить отсутствие повреждения при возможной иммунологической реакции (рис. 6—8). Возможно, эти особенности обусловлены свойством ткани быстро восстанавливаться.

На состоявшемся недавно симпозиуме [Edwards et al., 1975] подчеркивалось большое значение трофобласта в качестве «нейтрального защитного фильтра». Нейтральность означает здесь полное отсутствие или низкое количество потенциально антигенных веществ, проявляющихся на поверхности.

Антигены могут быть преходящими или же могут быть прикрыты соединениями сиаловой кислоты или защитными «усиливающими» антителами. Трофобласты действуют как фильтры, так как они ограничивают переход клеток и антител от организма матери к плоду.

Wegmann с соавт. (1979) в своем оригинальном исследовании получили данные, указывающие на способность мышинной плаценты адсорбировать антитела к H-2 антигенам, так же как и моноклональные анти-H-2K антитела. Возможно,

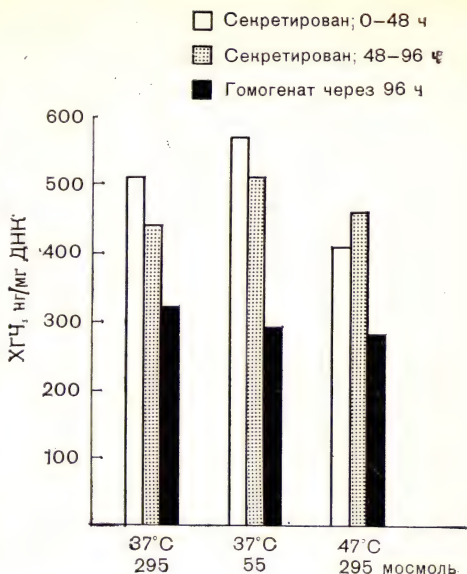


Рис. 8. Устойчивость синцитиотрофобласта к физическим стрессам и внешним воздействиям. Ткань сохраняет также свои метаболические функции. Секретция ХГЧ синцитиотрофобластами в культуре нарушалась незначительно при выдерживании в гипотоническом растворе или при повышенной температуре.

это способствует защите плода от реакции материнского организма на главные антигены гистонесовместимости.

ВЛИЯНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ПЛОД

Потомство иммуногенетически различных партнеров вызывает как местный, так и системный иммунные ответы у матери. Следует ожидать, что эти ответы должны быть вредны для потомства. Однако, по-видимому, они не причиняют вреда. Согласно данным, полученным Beer, Billingham, Scott (1975), генетическое несоответствие между организмом матери и плодом является для последнего преимуществом по сравнению с генетически совместимыми плодами. Преобладает число эмбрионов, которые успешно имплантируются и вынашиваются до конца беременности. Больше также масса комплекса плод — плацента. Эти наблюдения соответствуют данным, полученным Billington (1964), James (1965, 1967), доказавшим, что у мышей гистонесовместимость между организмом матери и плодом благоприятна для роста последнего и размеров плаценты. McLaren (1975) усомнилась в правильности этой гипотезы. Она утверждала, что на размеры плаценты у гибридов могут влиять другие факторы, а не антигенная несовместимость. По ее мнению, большие размеры плаценты могут быть связаны с генетическим гетерозисом, а не с антигенной несовместимостью, так как при антигенной несовместимости организма матери и плода, но генетическом подобии их масса плаценты и плода не увеличивается¹. Таким образом, молекулярной основы общеизвестного феномена «гибридной силы» пока еще окончательно не установлено.

Антитела и активированные иммунокомпетентные клетки могут проникнуть к комплексу плод — плацента. Адоптивный перенос клеток от мышей, иммунизированных к тканям генетической линии плода (отца) при сингенной беременности, приводил к рант-синдрому и гибели потомства [Beer, Billingham, 1973]. Иммунные лимфоциты, видимо, проникали через плаценту. Ряд наблюдений указывает также на переход антител. У человека антитела класса IgG могут проходить через плаценту. На вредное действие антител, направленных против какого-то компонента, указывает опыт, в котором крольчихам на 21-й день беременности вводили овечьи антитела к α -фетопroteinу в высоком титре; это вызывало гибель многих плодов [Slade, 1973].

Если гетерозиготная беременность вызывает иммунный ответ и если иммунные клетки и антитела могут проникать через плаценту, то почему же плод обычно не повреждается?

¹ Имеются в виду опыты, в которых бластоциста, полученная от скрещивания сингенных родителей, искусственно имплантируется в матку псевдобеременной аллогенной самки. — *Прим. ред.*

Возможно, это явление связано с характером иммунного ответа, индуцированного плодом.

СЫВОРОТОЧНЫЕ БЛОКИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ

Первоначальные понятия об усиливающих или защитных антителах, предохраняющих плод от иммунного ответа, были выдвинуты Voisin с соавт. (1968) и I. Hellström, K. E. Hellström (1971). Выяснено, что сыворотка содержит факторы, способные подавлять воздействие лимфоцитов на клетки-мишени. Материнская сыворотка подавляла цитотоксическое действие клеток селезенки, взятых от беременных ящериц, на клетки эмбриона [Voisin, 1979]. У мышей были элюированы антитела, связанные с трофобластами. Пассивный перенос их реципиентам способствовал приживлению аллотрансплантатов отцовской линии [Voisin, Chaouat, 1974]. Faulk с соавт. (1974) также указывали на присутствие на базальной мембране трофобласта женской плаценты IgG, который специфически реагировал с плацентарными антигенами и не вступал в перекрестную реакцию с базальными мембранами легких, щитовидной железы и почек. Интересным открытием было то, что аутологичная сыворотка беременных блокирует выработку фактора, ингибирующего миграцию макрофагов, сенсibilизированными лимфоцитами в присутствии плацентарных антигенов [Rabson et al., 1976]. Блокирующий эффект наблюдался только при использовании аутологичной сыворотки беременных женщин и не вызывался сывороткой небеременных женщин и сывороткой беременных крыс. Кроме того, чтобы вызвать супрессивное действие, наряду с сывороткой необходимо было наличие антигена. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что блокирующие факторы направлены против специфических антигенов, и возможно, они состоят не только из антител, а представляют собой комплекс антиген — антитело.

ПРОИСХОДИТ ЛИ ОБЩЕЕ УГНЕТИЕНИЕ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ?

По вопросу общего угнетения иммунных реакций во время беременности были опубликованы противоречивые данные. Neslop с соавт. (1954) указывали на длительное выживание кожных аллотрансплантатов у беременных крольчих. Если пересадка производилась на 3-й неделе беременности, то трансплантаты жили вдвое дольше, чем после пересадки в более ранние или поздние сроки беременности. В противоположность этим наблюдениям у крольчих беременность не влияла на выживание аллотрансплантатов у мышей [Medawar, Sparrow, 1956; Beer et al., 1975] и самок крупного рогатого скота [Billingham, Lampkin, 1957]. Иными словами,

ответ реципиента непостоянен на протяжении беременности и меняется в различных фазах. Период максимальной выживаемости аллотрансплантата соответствует пику выработки кортикостероида у беременных крольчих. Таким образом, изменения уровня гормонов и других продуктов могут влиять на активность иммунных клеток во время беременности.

Бласттрансформация лимфоцитов при беременности

Центральную роль в клеточном иммунитете играют Т-клетки тимусного происхождения. Среди лимфоцитов циркулирующей периферической крови преобладают именно Т-клетки (80 %). Они обладают способностью к бласттрансформации (делению) при культивировании с гликопротеиновыми экстрактами бобов и бобовых растений, например с фитогемагглютинидами (ФГА). Часть Т-клеток делится также при культивировании с лимфоцитами, несущими различные антигены гистосовместимости (реакция смешанной культуры лимфоцитов — СКЛ). Ввиду того что запуск и пролиферация Т-клеток обязательно сопутствуют развитию клеточного иммунитета, бласттрансформация периферических лейкоцитов под действием ФГА или в СКЛ широко применяется в качестве тестов на клеточный иммунитет. ФГА запускает большое количество Т-клеток и действует как общий стимулятор, тогда как в СКЛ пролиферация клеток вызывается антигеном и в пролиферацию включаются только клетки, имеющие рецепторы, распознающие стимулирующие аллогенные лимфоциты.

В литературе появилось много сообщений о том, что бласттрансформация периферических лейкоцитов у беременных женщин под действием ФГА *in vitro* в значительной мере подавлена [Jha et al., 1975]. В большинстве этих работ клетки культивировались в средах, в которые добавлялась аутологичная плазма. Если клетки тщательно отмывались и культивировались в средах, содержавших сыворотку небеременных, то не было обнаружено статистической разницы в трансформации лейкоцитов в крови беременных и небеременных под влиянием ФГА или в СКЛ [Yu et al., 1975; Knoblock et al., 1976]. Таким образом, ингибиторы содержатся в сыворотке беременных и имеют тенденцию связываться с лейкоцитами [Kasakura, 1971; Jones et al., 1973; Mehrotra, Talwar, 1975]. Кроме того, можно видеть, что не все лимфоциты связываются с факторами сыворотки беременных. При помощи метода, позволяющего наблюдать за взаимодействиями на поверхности, было установлено, что субпопуляция Т-клеток меняет свою электрофоретическую подвижность и поверхностный заряд под влиянием сывороточных факторов, тогда как другие лимфоциты не изменяются в таких условиях [Hanjan

et al., 1975]. Чувствительная субпопуляция отличается высоким отрицательным поверхностным зарядом и спонтанно образует розетки с эритроцитами барана после короткой инкубации.

Ингибиторные факторы сыворотки

В ряде сообщений отмечалось наличие иммунодепрессивных факторов в сыворотке беременных. Однако точная природа их пока не установлена.

Сыворотка беременных подавляет образование Т-клеточных розеток [Hanjan et al., 1975]. Содержащийся в ней фактор (или факторы), видимо, связывается с субпопуляцией Т-клеток, отличающихся высоким отрицательным поверхностным зарядом и высокой электрофоретической подвижностью. Этот эффект нельзя объяснить действием антител к антигенам гистосовместимости, так как сыворотка беременных влияла на клетки Т_H-ряда неродственных между собой доноров. Факторы, ответственные за это явление, возможно, действуют неспецифическому изменению реактивности этой субпопуляции Т-клеток. Она играет важную роль в клеточном иммунитете и в вызываемой митогенами бласттрансформации лимфоцитов [Nath et al., 1974; Talwar et al., 1977]. Фактор сыворотки, подавляющий розеткообразование, не диализируется, и его можно было обнаружить у мышей уже через 6 и 24 ч после спаривания. Он выдерживал нагревание при 56 °С, но разрушался при 72 °С [Morton et al., 1976].

У человека иммунодепрессивный фактор, видимо, исходит из беременной матки, и его можно обнаружить в ретроплацентарной материнской циркулирующей крови [Fuchs et al., 1977]. Характер иммунодепрессивных веществ в сыворотке беременных женщин не вполне установлен. Возможно, что они представляют собой:

- 1) гормоны, вырабатываемые при беременности;
- 2) негормональные белки, связанные с беременностью;
- 3) антитела к антигенам плода и плаценты;
- 4) комплексы антиген — антитело.

Гормоны

Во время беременности в крови появляется ряд гормонов (рис. 9). Эти гормоны имеют плацентарное происхождение. Важнейшими среди них являются человеческий хориальный гонадотропин (хориогонадотропин — ХГЧ) и человеческий хориальный соматотропин (хориосоматотропин — ХСЧ), известный также под названием человеческого плацентарного лактогена (ПЛЧ). ХГЧ появляется на довольно ранней стадии беременности, т. е. через 8—11 дней после оплодотворения. Уровень его в крови быстро повышается, и он присутствует

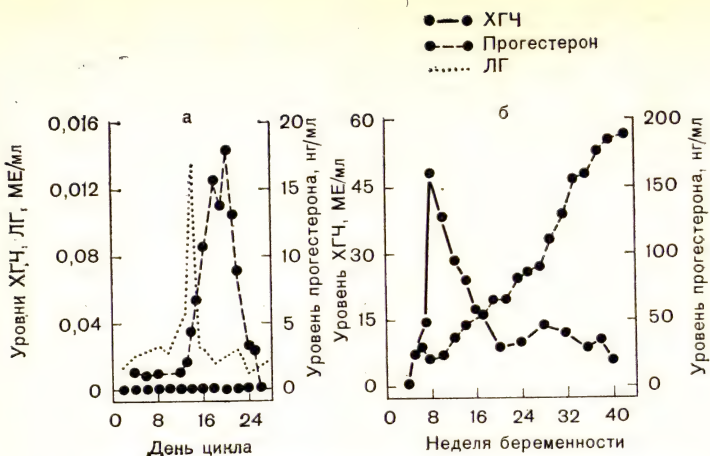


Рис. 9. Динамика появления во время беременности 2 гормонов с иммунодепрессивной активностью в циркулирующей крови и их концентрация. Уровень ХГЧ круто повышается в начале беременности и достигает максимальной величины в материнской сыворотке примерно на 8-й неделе (а). Общее количество циркулирующего ХГЧ в этом периоде в среднем равно 10 мг и больше, тогда как у небеременных его концентрация < 4 мг. Уровень прогестерона постепенно повышается и достигает величины, в 10 раз большей, чем его максимум в лютеальной фазе менструального цикла у небеременных женщин (б). Оба гормона вырабатываются трофобластом; очевидно, их концентрация в непосредственном соседстве с трофобластом еще более высока.

в довольно больших количествах (30—100 МЕ/мл) в циркулирующей крови. Две группы исследователей отмечали ингибиторное действие ХГЧ на бласттрансформацию лимфоцитов *in vitro* [Kaye, Jones, 1971; Adcock et al., 1973]. Они работали с частично очищенными препаратами коммерческого приготовления. Выяснено, что эти препараты ХГЧ являются сильными ингибиторами пролиферативной реакции лимфоцитов на такие митогены, как ФГА, такие антигены, как стрептолизин О, и аллогенные клетки [Muchmore, Blaese, 1977]. Иммунодепрессивная активность снижалась после диализа. В диализате, содержащем ингибиторный фактор, нельзя было обнаружить ХГЧ при помощи радиоиммунного анализа. Эти наблюдения позволяют предположить, что в моче беременных иммунодепрессивное действие оказывают другие вещества, которые выделяются вместе с ХГЧ в не полностью очищенных препаратах. Химическая природа этих ингибиторных факторов еще неизвестна. Внутривенные инъекции очищенного ХГЧ у крыс не удлиняли время выживания имплантированных в матку кожных аллотрансплантатов от гибридов F_1 10-дневного возраста [Kaye et al., 1973]; это, видимо, указывает на то, что ХГЧ не действует как иммунодепрессант при отторжении аллотрансплантатов.

Предполагается, что ХГЧ образует также защитный слой над трофобластами. Этот гормон представляет собой сплошную оболочку, покрывающую мембраны синцитиотрофобласта. Таким образом, на границе с тканью материнского организма фетоплацентарная ткань имеет покрытие из гликопротеина. Borland с соавт. (1975) установили, что кожа плода после инкубации с ХГЧ, подобно трофобластам, выживала длительное время у морских свинок. Если трофобласты обрабатывают нейраминидазой, то отторжение их ускоряется, но если обработанные ферментом трофобласты вступают в контакт с ХГЧ, они опять выживают длительное время у морских свинок.

Необходимо обратить внимание не только на такие, связанные с беременностью гормоны, как ХГЧ, но и на другие гормоны — кортикоиды, прогестерон и эстрогены, количество которых в жидкостях организма может резко меняться во время беременности. В главе 5 рассматривается их влияние на иммунологические реакции. Здесь можно подчеркнуть, что местные концентрации гормонов, вырабатываемых плацентой, должны быть довольно высокими, для того чтобы играть какую-то роль в иммунных реакциях против трофобласта.

Негормональные белки, связанные с беременностью

В эту категорию входит минимум два белка, способных, как указывается в литературе, влиять на иммунный ответ.

А. α -Фетопротейн (АФП) — это белок, вырабатываемый эмбриональными клетками печени. У взрослых уровень его очень низкий, но этот белок появляется эктопически при злокачественных процессах, особенно в гепатомах. Tomasi с соавт. отметили, что во время беременности у мышей резко нарушено образование антител IgA и IgG против Т-зависимого антигена — эритроцитов барана. Сыворотка беременных мышей подавляла *in vitro* вторичный антительный ответ на этот антиген. Однако если в сыворотке беременных не было АФП, то антительный ответ был нормальным. Аналогичные выводы были сделаны в опытах с СКЛ: сыворотка беременных мышей оказывала ингибирующее действие, которое утрачивалось после удаления АФП. Во время беременности АФП был обнаружен на поверхности определенной фракции Т-лимфоцитов селезенки. Эти клетки на градиентах плотности фиколл-гипак выделялись во фракциях низкой плотности и, возможно, представляли собой активированные Т-клетки.

Способность этого естественного эмбрионального белка, присутствующего у беременных в довольно больших количествах, подавлять антительный ответ и реакции СКЛ, позволяет предположить, что это одно из веществ, регулирующих иммунные реакции во время беременности. Возможно, он действует через субпопуляции Т-лимфоцитов.

В последнее время появились противоречивые данные о влиянии α -фетопротеина на иммунный ответ. Sell с соавт. (1977) не смогли подтвердить постоянного иммунодепрессивного действия этого белка у крыс. Golken, Thompson (1977) отметили, что иммунодепрессивная активность α -фетопротеина зависела от его источника, а также от методики его выделения. Таким образом, иммунодепрессивные свойства α -фетопротеина, возможно, зависят от его физико-химического состояния и конформации. Murgita, Wigzell (1976) установили, что мышинный α -фетопроtein подавляет *in vitro* иммунный ответ на антигены, зависящие от Т-клеток, но не влияет на реакцию, вызываемую антигенами, независимыми от них, например ДНФ-фиколл, или на стимулированный липополисахаридами поликлональный синтез антител В-клетками. В более поздней работе в лаборатории этих исследователей были получены доказательства индукции α -фетопроteinом клеток-супрессоров, подавляющих активность Т-клеток хелперов, не влияя на В-клеточный ответ к тимус-независимым антигенам [Murgita et al., 1977].

Б. Белок зоны беременности (БЗБ) — это $\alpha 2$ -глобулин неизвестного происхождения. Количество его в крови начинает быстро повышаться в конце I триместра беременности. Его концентрация в течение III триместра составляет около 100 мг %. После родов уровень белка в циркулирующей крови постепенно снижается. Несмотря на то что концентрация белка повышена во время беременности, возможно, он имеет не только плацентарное происхождение. Количество его увеличивается также у женщин, принимающих перорально противозачаточные пилюли, особенно содержащие эстрогены. По данным литературы, белок в очищенном виде подавляет реакцию лимфоцитов на стимуляцию ФГА [von Schoultz et al., 1973].

Кроме неспецифических факторов, оказывающих общее влияние на реактивность Т-клеток, есть основание предполагать также существование факторов, специфически блокирующих реактивность на отцовские антигены. Среди них следует назвать антитела к антигенам гистосовместимости отца [Voisin, Chaouat, 1974]. Эти антитела в больших количествах фиксируются на плаценте. Их можно элюировать, пользуясь соответствующими методами. У мышей они относятся к классу IgG. Они не связывают комплемента, но могут вызывать дегрануляцию тучных клеток отцовской линии. Они обладают облегчающими или усиливающими свойствами и обеспечивают приживание аллотрансплантата. Недавно из мембраны трофобласта были извлечены и солюбилизированы некоторые антигены [McIntyre, Faulk, 1979]. Они блокируют реакцию СКЛ, но не блокируют трансформацию лимфоцитов, вызываемую ФГА. Антитела к мембранам трофобласта также блокируют реакцию СКЛ. Авторы предполагают, что трофо-

бластные антигены вступают в перекрестную реакцию или конкурентно подавляют продукты медиатора реакции СКЛ.

Антитела и комплексы антиген — антитело

Выше мы рассматривали иммуноглобулины, связанные с женской и мышинной плацентой. Было сказано также о том, что они:

- 1) обладают специфической реактивностью с генотипическими плацентарными антигенами;
- 2) блокируют действие сенсибилизированных лимфоцитов на ткани плода.

Антигены, к которым образуются защитные антитела, точно еще не установлены. Faulk с соавт. (1975) обнаружили, что материал, элюированный из человеческого трофобласта, обладает реактивностью против актиноподобных структур. Возможно, антитела вырабатываются к нескольким фетоплацентарным антигенам. Необходимо их дальнейшее изучение. Элюаты иммуноглобулина эффективно подавляют реакцию СКЛ и бласттрансформацию лимфоцитов под действием ФГА и туберкулина [Faulk et al., 1974]. Антитела, связанные с базальной мембраной, оказывают, таким образом, общее неспецифическое угнетающее действие на лимфоциты, помимо защиты от специфических антигенов.

Неясен вопрос, почему антитела не способны вызывать лизис структуры, с которой они связываются. Благодаря этой особенности они оказывают защитное, а не деструктивное действие. Они могут прикрыть чужеродные эпитопы и таким образом предохранить их от атаки иммунокомпетентных клеток. Почему эти антитела лишены повреждающего действия? Неспособны ли они активировать комплемент? Может быть, на этих участках нет комплемента? Существует подкласс IgG, не имеющий рецепторов к комплементу. Это может относиться и к подклассу IgG, элюированного с мышинной плаценты. Однако антитела, элюированные с женской плаценты, видимо, по подклассу не отличаются от антител материнской сыворотки [Faulk et al., 1974]. Пока еще этот вопрос полностью не решен. Должна ли быть на поверхности клетки какая-либо минимальная плотность антигенных эпитопов для того, чтобы наступил цитолиз, опосредованный антителами и комплементом? Faulk (1980) недавно указывал, что человеческий трофобласт имеет рецепторы к трансферрину. Покрывание трофобластов «своим» белком к тому же защитит их от иммунной реакции.

Клетки-супрессоры

В смешанных культурах лимфоцитов, полученных от матери и из крови пуповины новорожденного, лимфоциты послед-

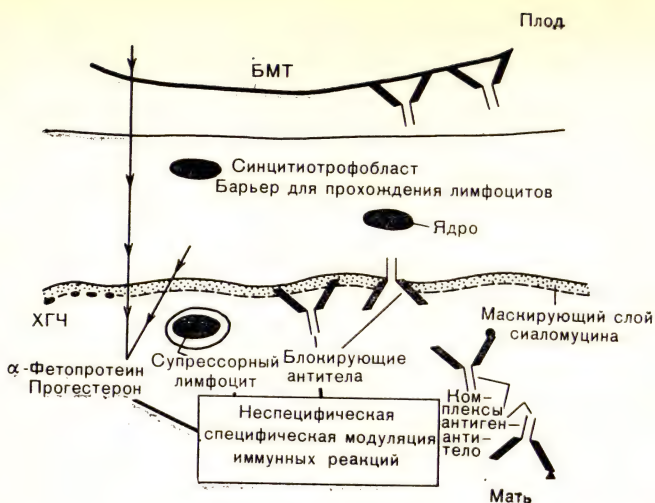


Рис. 10. Защите плода способствуют многие факторы. На рис. 5 показано анатомическое разделение между системами кровообращения матери и плода. Интерфазу образуют трофобласт и децидуальная оболочка матки. Обе ткани обладают особыми свойствами. СТ регулирует переход лимфоцитов между матерью и плодом. СТ — это устойчивая ткань, которая сопротивляется стрессам, обычно лизирующим другие клетки млекопитающих. Он покрыт сиаомуциновой оболочкой и ХГЧ. Сиаомуциновая оболочка имеет высокий отрицательный заряд, что препятствует взаимодействию СТ с лимфоцитами. ХГЧ, поскольку это «свой» гормон, представляет собой иммунозащитный слой. Плацентарные гормоны и белковые продукты могут оказывать общее влияние на материнские иммунные клетки, особенно в высокой концентрации и при непосредственном соседстве с трофобластом. К тому же иммунореактивность матери может подавляться и другими факторами, т. е. антителами, направленными против отцовских антигенов, и комплексами антиген—антитело. В литературе упоминаются также лимфоциты, имеющие супрессорную активность (ОМТ — основная мембрана трофобласта).

него подавляют трансформацию материнских [Olding, Oldstone, 1974; Olding et al., 1974]. Это подавление неспецифично и направлено не только на лимфоциты матери, но и на трансформацию лимфоцитов от неродственных взрослых доноров. Лимфоциты новорожденного не оказывают цитотоксического действия на лимфоциты матери, судя по высвобождению ^{51}Cr *in vitro*. Это супрессорное действие лимфоцитов плода, наблюдавшееся *in vitro*, если оно существует и *in vivo*, возможно, защищает ткани плода от агрессивных лимфоцитов.

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Для сохранения вида необходимо выживание плода как аллотрансплантата. Это выживание возможно благодаря взаимодействию ряда механизмов (рис. 10).

К ним относятся:

- 1) особая организация пограничных между матерью и плодом тканей;
- 2) защитное влияние антител, вырабатываемых к специфическим антигенам плода;
- 3) возможное блокирующее действие комплексов антиген — антитело;
- 4) общее влияние на иммунные клетки плацентарных белковых и стероидных гормонов и белков, связанных с беременностью;
- 5) супрессорное действие лимфоцитов плода.

Мы не утверждаем, что этот перечень полный, и, по всей вероятности, в дальнейшем будут открыты еще какие-то механизмы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adcock E. W., Teasdale F., August C. S. et. al.* — Science, 1973, v. 181, p. 845.
- Bagshaw K. D.* — In: The Biology and Surgery of Tissue Transplantation, p. 139. Edited by E. J. Maxwell Anderson. Blackwell. Oxford, 1970.
- Beer A. E., Billingham R. E.* — Advances in Immunology, 1971, v. 14, p. 1.
- Beer A. E., Billingham R. E.* — Science, 1973, v. 179, p. 240.
- Beer A. E., Billingham R. E., Scott J. R.* — Biology of Reproduction, 1975, v. 12, p. 176.
- Behrman S. J., Koren Z.* — In: Yearbook of Obstetrics and Gynaecology, 1963, p. 28. Edited by J. P. Greenhill. Yearbook Medical Publishers. Chicago, 1968.
- Billingham R. E., Lampkin G. H.* — Journal of Embryology and Experimental Morphology, 1957, v. 5, p. 551.
- Billington W. D.* — Nature, 1964, v. 202, p. 317.
- Billington W. D.* — In: Immunology of Human Reproduction, p. 81. Edited by J. S. Scoff and W. R. Jones. Academic Press. London, 1976.
- Bonneau M., Lortour M., Revillard J. P. et. al.* — Transplantation Proceedings, 1973, v. 5, p. 589.
- Borland R., Loke Y. D., Wilson D.* — In: Immunology of Trophoblast, p. 157. Edited by R. G. Edwards, C. W. S. Howe, M. H. Johnson. Cambridge University Press. Cambridge, 1975.
- Bradbury S., Billington W. D., Kirby D. R. S., Williams E. A.* — Histochemistry Journal, 1970, v. 2, p. 263.
- Currie G. A.* Ciba Foundation Symposium on Foetal Autonomy, p. 32. Churchill Livingstone. Edinburgh, 1969.
- Currie G. A., Doorninck V., Bagshaw K. D.* — Nature, 1968, v. 219, p. 191.
- Edidin M., Gooding L. R., Johnson M.* — In: 7th Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control, p. 336. Edited by E. Diczfalusy. Karolinska Institutet. Stockholm, 1974.
- Edwards R. G., Howe C. W. S., Johnson M. H. (Eds.)* — Immunobiology of Trophoblast. Cambridge University Press. Cambridge, 1975.
- Faulk W. P., Jeannot M., Creighton W. D., Carbonara A.* — Journal of Clinical Investigation, 1974, v. 54, p. 1011.
- Faulk W. P., Trencher P., Dorling J., Holborow J.* — In: Immunobiology of Trophoblast, p. 113. Edited by R. G. Edwards, C. W. S. Howe, M. H. Johnson. Cambridge University Press. Cambridge, 1975.
- Faulk W. P.* — In: Progress in Immunology, Academic Press (London) in press, 1980.

- Fuchs T., Mammarmstrom L., Smith E., Brundin J. — *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 1977, v. 56, p. 151.
- Golken N. E., Thompson J. S. — *Journal of Immunology*, 1977, v. 119, p. 139.
- Håkansson, Stellan. — In: 3rd International Symposium on Immunology of Reproduction, Abst. p. 132. Varna, Bulgaria, 1975.
- Hanjan S. N. S., Nath I., Talwar G. P. — In: Regulation of Growth and Differentiated Function in Eukaryotic Cells, p. 199. Edited by G. P. Talwar, Raven Press, New York, 1975.
- Hellström I., Hellström K. E. — *Nature*, 1971, v. 230, p. 49.
- Heslop R. W., Krohn P. L., Sparrow F. M. — *Journal of Endocrinology*, 1954, v. 10, p. 325.
- James D. A. — *Nature*, 1965, v. 205, p. 613.
- James D. A. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1967, v. 14, p. 265.
- Jha P., Talwar G. P., Hingorani V. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1975, v. 122, p. 965.
- Johnson M. H. — In: Immunobiology of Trophoblast, p. 87. Edited by R. G. Edwards, C. W. S. Howe, M. H. Johnson. Cambridge University Press, Cambridge, 1975.
- Jones E., Curzen P., Gangas J. M. — *Journal of Obstetrics and Gynaecology, British Commonwealth*, 1973, v. 80, p. 603.
- Kasakura S. — *Journal of Immunology*, 1971, v. 107, p. 1296.
- Kaye M. D., Jones W. R. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1971, N 7, v. 109, p. 1029.
- Kaye M. D., Jones W. R., Ing R. M. Y. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1973, v. 116, p. 39.
- Kirby D. R. S., Billington W. D., James D. A. — *Transplantation*, 1966, v. 4, p. 713.
- Knoblock V., Jonja V., Pospisil M. — *Archiv fuer Gynaekologie*, 1976, v. 220, p. 249.
- McCormick J. N., Faulk W., Page et al. — *Journal of Experimental Medicine*, 1971, v. 133, p. 1.
- McIntyre J. A., Faulk W. Page. — *Federation Proceedings*. — 1979, v. 38, p. 1171.
- McLaren A. — In: Immunobiology of Trophoblast, p. 255. Edited by R. G. Edwards, C. W. S. Howe, M. H. Johnson. Cambridge University Press, Cambridge, 1975.
- Medawar P. B. M. Symposium of the Society of Experimental Biology, 1953, v. 7, p. 320.
- Medawar P. B. M., Sparrow E. M. — *Journal of Endocrinology*, 1956, v. 14, p. 240.
- Mehrotra N. N., Talwar G. P. — In: Regulation and Growth of Differentiated Function in Eukaryote Cells, p. 325. Edited by G. P. Talwar. Raven Press, New York, 1975.
- Morton H., Hegh V., Clunie G. J. A. *Proceedings of the Royal Society (London)*, 1976, v. 193, p. 413.
- Muchmore A. V., Blaese R. M. — *Journal of Immunology*, 1977, v. 118, p. 881.
- Murgita R. A., Wigzell M. — *Scandinavian Journal of Immunology*, 1976, v. 5, p. 1215.
- Murgita R. A., Goidl E. A., Kontlanen S., Wigzell M. — *Nature*, 1977, v. 267, p. 257.
- Nath I., Curtis J., Bhutani L. K., Talwar G. P. — *Clinical and Experimental Immunology*, 1974, v. 18, p. 81.
- Olding L. B., Nenirschke K., Oldstone M. B. A. — *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1974, v. 3, p. 79.
- Olding L. B., Oldstone M. B. A. — *Nature*, 1974, v. 249, p. 161.
- Paul S., Jaiikhani B. L., Gupta P. D., Talwar G. P. — *Journal of Reproduction and Fertility* (in press), 1979.
- Rabson A. R., Bey M. C., Kerrich J. E., Koornhof H. J. — *South African Medical Journal*, 1976, v. 50, p. 201.

- Schlesinger M.* — Journal of the National Cancer Institute, 1962, v. 28, p. 927.
- Sell S., Sheppard H. W., Poler M.* — Journal of Immunology, 1977, v. 119, p. 98.
- Simmons R. L., Russell P. S.* — Annals of the New York Academy of Science, 1962, v. 99, p. 717.
- Simmons R. L., Russell P. S.* — Trophoblast Conference, Rochester, 1963.
- Slade B.* — Nature, 1973, v. 246, p. 493.
- Talwar G. P., Hanjan S. N. S., Mehra V. L., Zeba Kidwai.* — Journal of Immunology, 1977, v. 118, p. 242.
- Taylor P. V., Gowland G., Hancock R. W., Scott J. S.* — American Journal of Obstetrics and Gynaecology, 1975, v. 4, p. 528.
- Voisin G. A.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 515. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North Holland. Amsterdam, 1979.
- Voisin G. A., Chaouat G.* — In: Seventh Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control, p. 374. Edited by E. Diczfalusy, 1974.
- Voisin G. A., Kinsky R. B., Maillard J.* — Annales de l'Institut Pasteur, 1968, v. 115, p. 855.
- Von Schoultz B., Stigbrand T., Tarnvik A.* FEBS Letter, 1973, v. 38, p. 23.
- Wegmann T. G., Mosmann T. R., Carlson G. A. et al.* — Journal of Immunology, 1979, v. 123, p. 1020.
- Youtananukorn V., Matangkasombut P., Osathanondh V.* — Clinical and Experimental Immunology, 1974, v. 16, p. 593.
- Yu V. Y. H., Waller C. A., MacLennan I. C. M., Baum J. D.* — British Medical Journal, 1975, v. 1, p. 428.

ГЛАВА 5

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ

ОБЩЕЕ ВСТУПЛЕНИЕ

Иммунный ответ индивида на антиген зависит от ряда факторов. Животное может обладать способностью реагировать на определенную антигенную детерминанту, но может быть и лишено этой способности. Известны инбредные линии мышей, генетически не способные развивать иммунный ответ на эпитоп. Возможно, это зависит от их конституциональной неспособности продуцировать лимфоциты такой специфичности, которая позволила бы распознавать данную антигенную детерминанту. Таким образом, генетические факторы могут качественно лимитировать отвечаемость на антигены.

Степень ответа также может весьма варьировать у отвечающих индивидов. Из факторов, оказывающих важное влияние на количественные масштабы ответа, можно назвать тип и уровень циркулирующих гормонов и особенность питания животного.

ГОРМОНАЛЬНАЯ БЛОКАДА РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОГО ЛИМФОИДНОГО ОРГАНА

В процессе онтогенеза наличие соответствующего гормона важно для правильного развития и программирования в критической стадии. Вместе с тем отсутствие этого гормона или введение антагонистического гормона в таких стадиях может остановить процесс развития. Примером может быть блокада развития сумки Фабрициуса птиц после воздействия на эмбрионы тестостероном. У птиц сумка является источником В-клеток, которые в конечном счете становятся антителообразующими клетками. Таким образом, введение андрогенов на критических стадиях развития вызывает функциональную «бурсэктомия» у птиц и неспособность продуцировать антитела [Meyer et al., 1959; Warner, Burnet, 1961].

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ТИМУСА

Тимус — это ключевой первичный лимфоидный орган и источник Т-лимфоцитов. Т-лимфоциты участвуют как в клеточных, так и в гуморальных иммунных реакциях. В тимус поступают стволовые клетки из ретикулоэндотелиальной системы. Внутри тимуса они размножаются, дифференцируются и созревают, превращаясь в иммунокомпетентные клетки.

Таблица 1. Гормоны, влияющие на иммунный ответ

Активаторы	Ингибиторы
Гормон роста Гормоны щитовидной железы Факторы тимуса Эстрогены Биогенные амины (гистамин, катехоламин)	Кортикоиды Прогестерон Прогестативные контрацептивные стероиды Тестостерон на ранних стадиях развития у птиц

В тимусе происходит интенсивная клеточная пролиферация. Эта активность не зависит от антигенной стимуляции и не подлежит регуляции антителами по принципу обратной связи [Miller, Mitchell, 1970]. Определенное отношение к кругообороту клеток имеет эпителиальная ткань внутри железы. С возрастом происходит инволюция тимуса, причина которой еще не известна. Когда прекращается функция тимуса, то, возможно, ослабляется способность индивида генерировать новые виды связывающих специфичностей (антител). В тимусе вырабатывается ряд гуморальных факторов, влияющих на дифференцировку и созревание Т-клеток [Goldstein, White, 1973; Bach et al., 1974].

Тимотропное действие гипофиза

У карликовых мышей линии Snell Bagg слабо развит тимус, и они погибают от рант-синдрома, вызванного дефицитом Т-лимфоцитов [Bagoni, 1967]. У этих животных функция гипофиза снижена. Если у здоровых мышат удаляется гипофиз, то происходит атрофия тимуса. Масса органа снижается даже в расчете на сниженную массу тела [Smith, 1930; Talwar et al., 1975]. Аналогичные атрофические изменения описаны у животных, которым вводились антитела к гомогенатам гипофиза [Pierpaoli, Sorkin, 1968; Pandian, Talwar, 1971]. Этот дефицит у животных после гипофизэктомии может быть частично восполнен некоторыми гормонами, из них наиболее важны гипофизарный соматотропин (или гормон роста — ГР) и тиреоидные гормоны, вырабатываемые под стимулирующим влиянием гипофизарного ТСГ [Pierpaoli et al., 1969].

Гормон роста (соматотропный гормон)

Существует ряд наблюдений, указывающих на благотворное влияние соматотропного гормона. Антитела к этому гормону снижают функцию тимуса, а введение гормона восстанавливает массу последнего и зависимые от Т-клеток иммунологические реакции, что можно определить путем подсчета бляшкообразующих клеток при стимуляции эритроцитами барана [Pierpaoli et al., 1969; Pandian, Talwar, 1971].

Стимулирующее действие гормона пока еще не вполне объяснено. На мембранах тимоцитов можно обнаружить рецепторы к гормону [Pandian et al., 1975]. Не все тимоциты связывают гормон; этой способностью обладает только определенная популяция. У молодых грызунов связывающие гормон клетки составляют приблизительно 65 % от всех изолированных тимоцитов [Talwar et al., 1974]. С возрастом этот процент постепенно снижается настолько, что в препаратах, взятых у крыс в возрасте 18 мес и старше, можно обнаружить лишь немного клеток, чувствительных к этому гормону [Hanjan, Talwar, 1975]. Снижение числа клеток с рецепторами к гормону совпадает с возрастным уменьшением массы и размера тимуса.

Лимфоциты в периферической циркулирующей крови, как правило, не несут рецепторов для этого гормона. Однако когда эти клетки в состоянии покоя стимулируются к пролиферации путем культивирования с фитомиогенами, то на них появляются рецепторы к гормону роста [Hanjan, Talwar, 1975]. Рецепторы для соматотропного гормона имеются также в лимфомах, где клетки непрерывно размножаются [Desai et al., 1973]. Таким образом, можно сделать два вывода.

1. Лимфоциты обладают способностью «включать» и «выключать» рецепторы для соматотропного гормона. Когда ре-

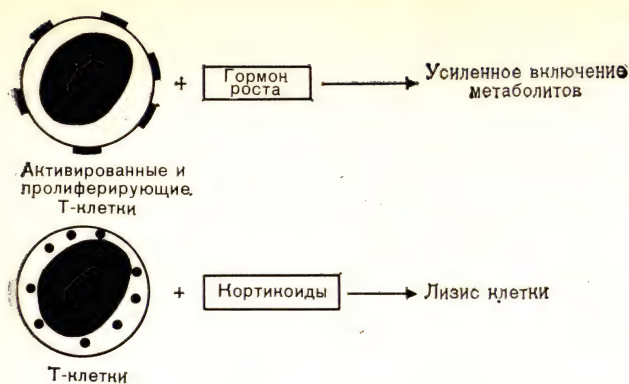


Рис. 11. Рецепторы для гормона роста (ГР), локализованные на мембранах лимфоидных клеток в стадии активной пролиферации. В присутствии гормона роста включение аминокислот, пиримидинов и других метаболитов повышается, ускоряется синтез макромолекул и рост клеток. Рецепторы кортикоидов находятся внутри клеток. Комплекс гормон—рецептор транслируется (переносится) к ядру. Наиболее ранние действия — синтез РНК и белка. Один из гормониндуцированных белков ингибирует включение глюкозы в клетку и в результате приводит к ее истощению и лизису.

цепторы «выключены», т. е. клетки находятся в покое, то, очевидно, они не проницаемы для гормона, содержащегося в циркулирующей крови. Это пример того, как клетки в многоклеточных организмах могут быть избирательно отключены от эффекторного действия агента, который тем не менее сохраняется и может влиять на другие чувствительные системы. Ареактивной становится клетка-мишень, хотя в среде эффекторный агент сохраняется.

2. Ввиду того что рецепторы для гормона имеют активированные или делящиеся лимфоциты, можно предполагать роль этого гормона в размножающихся клетках. Локализация его на мембранах, возможно, облегчает поглощение клеткой метаболитов и питательных веществ, а это несомненно необходимо для роста. Подробно эти вопросы обсуждаются в работе Talwar с соавт. (1975).

Таким образом, соматотропный гормон может действовать на двух уровнях:

- 1) развития и сохранения функции тимуса;
- 2) как фактор, способствующий поглощению аминокислот, энергетических субстратов и электролитов, необходимых для пролиферации клона иммунных клеток и для синтеза и секреции антител.

Для синтеза белков (антител) требуются аминокислоты, большинство из которых должно транспортироваться внутрь клетки из внеклеточной среды. Если какая-либо из 20 амино-

кислот присутствует в недостаточном количестве, то синтез антител прекращается. Скорость поступления этих аминокислот также влияет на темпы синтеза белка, даже если имеются все другие компоненты аппарата, т. е. рибосомы, иРНК, тРНК, иницирующие факторы и ферменты. Отсюда значение состояния питания (содержание в диетических источниках аминокислот и высокоэнергетических пищевых продуктов), а также таких агентов, как соматотропный гормон и инсулин, благодаря которым клетки могут поглощать эти вещества. Деление клеток зависит также от поступления компонентов, необходимых для осуществления синтеза (рис. 11).

Пролактин в некоторых участках своей структуры сходен с соматотропным гормоном; в последовательности аминокислот двух гормонов имеются большие гомологичные участки [Niall et al., 1973]. Многие биологические функции двух гормонов совпадают, хотя между ними есть и различия. Действие пролактина на лимфоидные клетки как таковое не изучалось. Этот гормон стимулирует поглощение и включение уридина в РНК изолированными тимоцитами подобно соматотропному гормону [Saxena, Talwar, 1974].

Тиреотропный гормон (ТГ) и тиреоидные гормоны

Pierpaoli с соавт. (1969) указывают, что, кроме соматотропного гормона, ТГ *in vivo* или тиреоидные гормоны могут восстанавливать образование антител у мышей с гормональными дефицитами. По-видимому, ТГ действует преимущественно через тиреоидные гормоны, а не прямо на лимфоидные клетки. Таким образом, тимоциты и другие лимфоидные клетки чувствительны к целому ряду гормонов. Инсулин облегчает поглощение метаболитов изолированными тимоцитами, хотя посредством иного механизма, чем соматотропный гормон.

Ранее неизвестные пептиды гипофиза

Возможно, что влияние гипофиза на тимус осуществляется не только при помощи упомянутых выше гормонов. Недавние эксперименты в нашей лаборатории [Saxena, Talwar, 1977] показали, что гипофизарные экстракты стимулируют *in vitro* поглощение и включение меченого ^3H -тимидина в тимоциты крыс. Этой способностью не обладает ни один из известных гипофизарных гормонов в своей нативной концентрации в гипофизе и даже в пятикратно повышенной концентрации. Стимулирующий эффект нельзя объяснить также всей совокупностью действия известных гипофизарных гормонов. Стимуляторный фактор устойчив при нагревании и подвержен диализу. Он дает положительную реакцию с нингидрином, и активность его чувствительна к аминоклотидазе. Таким обра-

зом, по всей вероятности, этот фактор (или факторы) представляет собой низкомолекулярный пептид. Гипоталамические пептиды, РГ-ЛГ (рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона) и РГ-ТГ (рилизинг-гормон тиреотропного гормона) не могут воспроизвести действие этого фактора на изолированные тимоциты.

КОРТИКОСТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Хорошо известны иммунодепрессантные свойства кортикоидных гормонов надпочечников, они широко применяются в клинической практике. Эти гормоны могут ликвидировать ранее существовавшую сенсibilизацию, если они вводятся в течение достаточно продолжительного времени. Гидрокортизон удлиняет также состояние ареактивности, вызванное введением антилимфоцитарной сыворотки [Medawar, 1969]. Другое замечательное свойство кортизона и синтетических глюкокортикоидов, таких, как преднизон, заключается в том, что они действуют местно в тех участках, где вносятся. Местное применение позволяет значительно уменьшить дозу гормона, когда необходимо получить местный иммунодепрессивный эффект. Иммунодепрессивный эффект кортикоидов имеет несколько механизмов действия. Эти гормоны являются противовоспалительными агентами. Возможно, они влияют также на мобилизацию или созревание лимфоцитов.

Кортикоиды в больших количествах действуют лимфоцитически. Кортизон разрушает большинство лимфоцитов в тимусе. Однако небольшая популяция иммунокомпетентных клеток (около 5 %) резистентна к гормону [Blomgren, Andersson, 1969; Cohen, Claman, 1971].

Механизм поражающего действия кортикоидов на лимфоциты в некоторой степени изучен. В цитоплазме чувствительных клеток содержатся белки с высокой аффинностью к гормону. Комплекс рецептор — гормон мигрирует к ядру и продуцирует вид РНК, кодирующий особые белки. Индуцированные белки локализуются на клеточных мембранах и блокируют поглощение глюкозы клеткой. Клетка погибает из-за недостатка энергетических субстратов (см. рис. 11) [Munck, 1968; Makman et al., 1971].

Клетки, чувствительные к кортизону, имеют рецепторы для этого гормона. Вполне вероятно, что резистентные к кортизону клетки приобретают устойчивость из-за потери рецепторов к гормону или вследствие нарушения транслокации комплекса гормон — рецептор к ядру. Возможно также, что комплекс гормон — рецептор в этих клетках кодирует другие белки, а не белки-самоубийцы.

Неопубликованные данные, полученные в нашей лаборатории, указывают на то, что клетки, чувствительные к соматотропному гормону, обладают также чувствительностью к кор-

тизону. Возможно, малые количества гормона не повреждают лимфоидные клетки. Более того, в литературе сообщалось, что гидрокортизон необходим для синтеза антител в синтетических средах [Ambrose, 1964].

Различные виды стресса — голодание, лихорадка и т. д. вызывают инволюцию тимуса, хотя преходящую и обратимую. Предполагается, что это действие опосредовано кортикостероидами, которые вырабатываются в больших количествах в таких ситуациях [Dougherty, White, 1945]. Эффект действия кортикостероидов, возможно, зависит от их дозы.

ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ И КОНТРАЦЕПТИВНЫХ ГОРМОНОВ

Половые стероиды

Данные о влиянии половых стероидов на иммунологические реакции взрослого организма противоречивы. В некоторых случаях это, возможно, объясняется разными концентрациями, в которых использовались гормоны. В высоких концентрациях эстрогены, по данным литературы, усиливают иммунный потенциал, вероятно, вследствие активации фагоцитарных клеток, однако их действие на иммунный аппарат в физиологических количествах не вполне доказано. Появился ряд сообщений, в которых описывается повышение титра антител у швейцарских (Swiss) мышей, иммунизированных столбнячным анатоксином, под влиянием эстрогенов [Rangnekar et al., 1974] и/или при обработке местранолом. Усиливающее действие местранола было особенно выражено у тимэктомированных мышей.

Предполагается, что прогестерон ослабляет иммунный ответ. Этот вывод основан на следующих наблюдениях.

Лимфоциты от небеременных женщин при культивировании с ФГА в среде, содержащей прогестерон, слабо включают меченный тритием тимидин (^3H -тимидин) [Mori et al., 1978]; при концентрации прогестерона 10^3 — 10^4 нг/мл наблюдалось значительное торможение бласттрансформации. Эстрогены в этих условиях не оказывали эффекта. Такая концентрация прогестерона, хотя и высокая по сравнению с его нормальным уровнем в циркулирующей крови, соответствует его концентрации в плаценте. Если эти наблюдения, сделанные *in vitro*, справедливы и для организма, то высокие концентрации прогестерона на месте его образования, т. е. в плаценте, возможно, подавляют местно бласттрансформацию материнских лимфоцитов, без системных воздействий, так как прогестерон будет содержаться в более низких концентрациях в циркулирующей крови.

Контрацептивные стероиды

Статистический анализ данных, собранных при обследовании большого числа женщин, показал, что регулярный прием пероральных противозачаточных таблеток повышает восприимчивость к кори и другим инфекционным заболеваниям. У 22 женщин, которые в течение различных периодов (3—26 мес) принимали стероидные контрацептивные средства, изучалась способность к антительному ответу на определенный антиген, например столбнячный анатоксин [Joshi et al., 1971]. Препараты женщинам назначали или перорально (норгестрел 0,5 мг и этинилэстрадиол 0,05 мг ежедневно) в течение 21 из 28 дней или Деро-Провера с эстрогеном в течение 7 дней. Из 22 женщин у 11 титры были ниже 0,312 после иммунизации. В контрольной группе, включавшей 12 женщин, пользующихся внутриматочными средствами или презервативами, только у одной титр антител был ниже 0,312. Эта разница была статистически высокодостоверна. У женщин, получавших прогестогенные контрацептивы (без эстрогенов), отмечался еще более слабый антительный ответ на столбнячный анатоксин; у 5 из 7 женщин титр антител был ниже 0,312. Обработка контрацептивными стероидами у животных, иммунизированных активно или пассивно, не влияла на скорость распада антител. Исследователи пришли к выводу, что прогестативные контрацептивные средства, возможно, нарушали синтез антител.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ БЕРЕМЕННОСТИ

Плацента является источником нескольких гормонов, и у беременных в крови содержится ряд гормонов, некоторые из них достигают довольно высоких концентраций. Возможная роль прогестерона рассматривалась выше. Эстриол является слабым эстрогеном. О влиянии его, если он действует на иммунный аппарат, мы ничего не знаем. Кортикостероиды образуются у некоторых видов (например, у кролика) в значительных количествах на определенной фазе беременности. В главе 4 было рассмотрено влияние этих гормонов на иммунный ответ. Ряд белковых гормонов вырабатывает трофобласт. Плацентарные кортикотропин и тиреотропин, очевидно, должны влиять на железы-мишени — надпочечники и щитовидную железу. Человеческий плацентарный лактоген (ПЛЧ) или человеческий хориональный соматотропин появляется на несколько более поздней стадии беременности, но уровень его постепенно повышается. Этот гормон сходен с гипофизарным соматотропным гормоном и пролактином; первичная структура трех гормонов имеет большие участки гомологии. По всей вероятности, этот гормон должен дей-

ствовать на иммунный ответ подобно соматотропному гормону и пролактину. Однако непосредственных исследований этого вопроса не проводилось.

Человеческий хориальный гонадотропин (ХГЧ)

Этот гормон привлекал к себе внимание по ряду причин. Он относится к самым ранним гормонам, синтезируемым и секретируемым трофобластом. Его уровень быстро повышается и достигает высокого плато примерно к 8-й неделе беременности. Он необходим для того, чтобы беременность состоялась, и для ее поддержания минимум в течение первых 7 нед.

Гормон локализуется на мембранах клеток синцитиотрофобласта. Он образует почти непрерывную оболочку на клетках и, таким образом, служит границей, разделяющей ткани организма матери и плода.

Организм матери толерантен к этому гликопротеину, поэтому предполагается, что он обеспечивает иммунологическую защиту трофобластов. Поверхностная локализация этого гормона вызвала предположение о его возможной роли при имплантации, хотя четких данных по этому вопросу не было опубликовано.

Прямое отношение к теме настоящей главы имеет ряд статей, в которых описывается подавление бласттрансформации лейкоцитов, вызываемой ФГА под действием ХГЧ [Contractor, Davies, 1973; см. также ссылки на литературные источники к главе 4]. Сообщалось также, что ХГЧ удлиняет продолжительность жизни кожных аллотрансплантатов [Pearse, Kaiman, 1967] и подавляет образование антител [Younger et al., 1969].

Эти исследования осуществлялись с неочищенными препаратами коммерческого производства, имеющими биологическую активность от 2 до 4000 МЕ/мг. Использование же более чистых препаратов вызвало сомнение в том, что ХГЧ действительно является иммунодепрессантом.

Morse с соавт. (1976) применяли высокоочищенный препарат ХГЧ. Пользуясь им, они не наблюдали подавления трансформации лимфоцитов, вызываемой ФГА. Высокоочищенный ХГЧ не влиял также на реакцию лимфоцитов в СКЛ. Подавление, вероятно, обусловлено примесями, присутствующими в неочищенном препарате. Человеческий хориогонадотропин обычно готовится из мочи беременных женщин, и возможно, что полуочищенные препараты содержат ингибиторы такого происхождения. Loke, Pepys (1975) установили, что неочищенные препараты ХГЧ имеют антикомплементарную активность, что, вероятно, объясняется присутствием в них иммуноглобулинов или комплексов антиген — антитело. Вопрос о том, оказывает ли действительно ХГЧ иммунодепрессивное действие, нуждается в дальнейшем изучении.

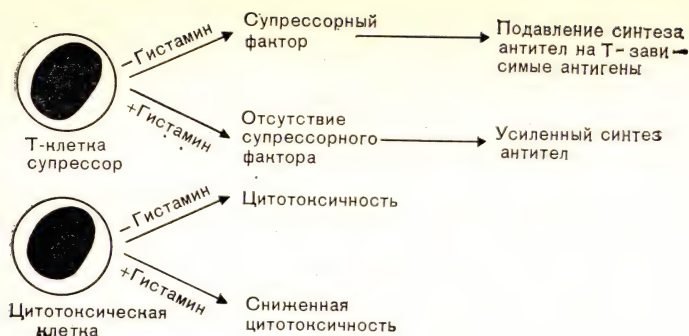


Рис. 12. Субпопуляции Т-клеток, несущих рецепторы гистамина, катехоламинов и простагландина Е. Эта субпопуляция обычно выполняет роль супрессора синтеза антител. Она также проявляет цитотоксическое действие. В присутствии биогенных аминов супрессорная и цитотоксическая активность этих клеток блокируется.

НАЛИЧИЕ РЕЦЕПТОРОВ БИОГЕННЫХ АМИНОВ И ПРОСТАГЛАНДИНОВ НА ЛИМФОЦИТАХ

В последние годы чрезвычайно важным было открытие рецепторов гистамина, адреналина, норадреналина и простагландинов Е на лимфоцитах [Weinstein et al., 1973]. Эти рецепторы имеют Т-лимфоциты. Субпопуляция Т-клеток, выполняющая функцию супрессоров [Shearer et al., 1974], несет рецепторы и чувствительна к действию упомянутых агентов.

Биогенные амины подавляют образование супрессорного фактора этими клетками. Антительный ответ на Т-зависимые антигены, таким образом, в их присутствии усиливается (рис. 12).

Рецепторы для биогенных аминов имеются также на цитотоксических клетках-предшественниках [Shearer et al., 1977]. Таким образом, эти гормоны, по-видимому, оказывают регулирующее влияние на гуморальные и клеточные иммунные реакции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ambrose C. T. — Journal of Experimental Medicine, 1964, v. 119, p. 1027.
 Bach J. F., Dardenne M., Pleau J. M. C. R. — Academie des Sciences (Paris), 1974, v. 278, p. 335.
 Baroni C. — Experientia, 1967, v. 23, p. 282.
 Blomgren H., Andersson B. — Experimental Cell Research, 1969, v. 57, p. 185.
 Cohen J. J., Claman H. N. — Journal of Experimental Medicine, 1971, v. 133, p. 1026.
 Contractor S. F., Davies H. — Nature (New Biology), 1973, v. 243, p. 284.
 Desai L. S., Lazarus H., Li C. H., Foley G. E. — Experimental cell Research, 1973, v. 81, p. 330.

- Dougherty T. F., White A. — American Journal of Anatomy, 1945, v. 77, p. 81.
- Goldstein A. L., White A. — Topical Immunobiology, 1973, v. 2, p. 339.
- Hanjan S. N. S., Talwar G. P. — Molecular and Cellular Endocrinology, 1975, v. 3, p. 185.
- Joshi U. M., Rao S. S., Kora S. J. et al. — Contraception, 1971, v. 3, p. 327.
- Loke Y. W., Pepys M. B. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1975, v. 121, p. 37.
- Makman M. H., Dovorkin B., White A. — Proceedings of the National Academy of Science (USA), 1971, v. 68, p. 1269.
- Medawar Peter. Proceedings of the Royal Society (London), 1969, v. B 174, p. 155.
- Meyer R. K., Rao M. A., Aspinall R. L. — Endocrinology, 1959, v. 64, p. 890.
- Müller F. A. P., Mitchell G. F. — In: Control Process in Multicellular Organisms, p. 238. Edited by G. E. W. Wolstenholme, Julie Knight. J. and A. Churchill. London, 1970.
- Mori T., Kobayashi H., Nishimura T. et al. — Immunology of Reproduction, p. 816. Bulgarian Academy of Sciences. Sofia, 1978.
- Morse J. H., Stearns G., Arden J. et al. — Cellular Immunology, 1976, v. 25, p. 178.
- Munck A. — Journal of Biological Chemistry, 1968, v. 243, p. 1039.
- Niall H. D., Hagan M. L., Treagear G. W. et al. — Recent Progress in Hormone Research, 1973, v. 29, p. 387.
- Pandian M. R., Gupta P. D., Talwar G. P., Avrameas S. — Acta endocrinologica (Kbh), 1975, v. 78, p. 781.
- Pandian M. R., Talwar G. P. — Journal of Experimental Medicine, 1971, v. 134, p. 1095.
- Pearse W. H., Kaiman H. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1967, v. 98, p. 572.
- Pierpaoli W., Baroni C., Fabris N., Sorkin R. — Immunology, 1969, v. 16, p. 217.
- Pierpaoli W., Sorkin E. — Journal of Immunology, 1968, v. 101, p. 1036.
- Rangnekar K. N., Rao S. S., Joshi U. M. — Contraception, 1974, v. 10, p. 527.
- Saxena R. K., Talwar G. P. — Acta endocrinologica (Kbh), 1974, v. 76, p. 248.
- Saxena R. K., Talwar G. P. — Nature (London), 1977, v. 268, p. 57.
- Shearer G. M., Simpson E., Weinstein Y., Melmon K. L. — Journal of Immunology, 1977, v. 118, p. 756.
- Shearer G. M., Weinstein Y., Melmon K. L. — Journal of Immunology, 1974, v. 113, p. 597.
- Smith P. E. — Anatomical Record, 1930, v. 47, p. 119.
- Talwar G. P., Kumar N., Pandian M. R., Gupta P. D. — Molecular and Cellular Endocrinologie, 1974, v. 1, p. 209.
- Talwar G. P., Pandian M. R., Kumar N. et al. — Recent Progress in Hormone Research, 1975, v. 31, p. 141.
- Warner N. L., Burnet F. M. — Australian Journal of Biological Sciences, 1961, v. 14, p. 580.
- Weinstein Y., Melmon K. L., Bonrue H. R., Sela M. — Journal of Clinical Investigation, 1973, v. 52, p. 1349.
- Younger J. B. St., Pierre R. L., Zmigewski C. M. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1969, v. 105, p. 9.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ГОРМОНОВ И ПРОТИВОЗАЧАТОЧНЫХ АГЕНТОВ

Радиоиммуноанализы явились предвестником новой эры определения гормонов и значительно содействовали более полному изучению гормональных ритмов в репродуктивной системе. Они сочетают в себе специфичность с очень тонкой чувствительностью и позволяют определять гормоны в биологических жидкостях в количестве от нанограмма (миллиардная доля грамма, 10^{-9} г) до пикограмма (10^{-12} г). Радиоиммуноанализы были разработаны не только для определения естественных белковых и стероидных гормонов, но и для определения противозачаточных стероидов и метаболитов; в результате этого можно исследовать фармакокинетику и распределение этих соединений в различных отделах организма.

Эти анализы основаны на принципе конкуренции между различными порциями гормона, определяемого в образце, и меченым радиоактивной меткой гормоном за связывание с антителами, специфически реагирующими с гормоном. Для анализа необходимы следующие ингредиенты: 1) высокоактивная моноспецифическая антисыворотка; 2) гормоны, меченные радиоактивным изотопом до высокой специфической радиоактивности, так, чтобы мечение не могло существенно изменить химическую природу и иммунологическую реактивность молекулы.

АНТИСЫВОРОТКИ

Для приготовления специфических антисывороток необходимо располагать сверхчистыми гормонами, чтобы избежать примеси других антигенов. Иногда в организме животного небольшие примеси вызывают образование антител к ненужным антигенам, однако такие антитела можно абсорбировать из антисыворотки путем предварительной инкубации ее с предполагаемыми примесями.

Бывает так, что два гормона, даже в высокоочищенной форме, образуют перекрестно реагирующие антитела. Это относится к гонадотропинам человека ФСГ, ЛГ, ХГЧ и ТГ. Перекрестная реактивность антител объясняется тем, что каждый из этих гормонов состоит из двух субъединиц, и во всех гормонах α -субъединица является идентичной; она служит источником перекрестно реагирующих антител. Если использовать для иммунизации не всю молекулу гормона, а лишь β -субъединицу, то можно получить антитела, специфически реагирующие с данным гормоном. По этому принципу были получены антисыворотки, которые специфически реагируют

с ХГЧ и не реагируют с ЛГ, ФСГ и др. [Vaitukaitis et al., 1972]. Иммунизация пептидными фрагментами, относящимися к С-терминальной области, уникальной для молекулы ХГЧ, также может обеспечить получение высокоспецифических антисывороток.

У животных при иммунизации белковыми антигенами образуется группа антител, а не только один какой-то их вид. Кроме того, у различных животных существует количественная и качественная вариабельность иммунного ответа. Поэтому для иммунизации было бы желательно использовать ряд животных и отобрать сыворотки, обладающие наиболее желательными свойствами, т. е. с высоким титром, авидностью антител и достаточной специфичностью. Аффинность и специфичность антител обычно повышаются со временем после иммунизации.

Для того чтобы вызвать образование антител, стероидные гормоны должны быть соединены с молекулами белка-носителя. Это соединение должно произойти в дискретных участках стероидной молекулы для получения антител с узким спектром специфичности. Обычно, когда стероид соединяется в позиции, отдаленной от функциональной группы, определяющей специфичность гормона, этот участок может служить антигенной детерминантой и, таким образом, вызывать образование антител, специфически распознающих гормон. Для соединения со стероидной молекулой в позициях 1, 6, 7 или 11 служат такие химические мостики, как карбоксиметил оксим, карбоксиэтилтиоэфир, хемисукцинат и др. Такие эстрогены, соединенные в позиции 6 с белком-носителем, вызывают образование сывороток, распознающих и различающих эстрон, эстрадиол и эстриол [Bauminger et al., 1974]. Точно так же были приготовлены сыворотки, которые избирательно реагируют с прогестероном, его метаболитами и различными андрогенами.

МЕЧЕННЫЕ ГОРМОНЫ

Для метки белковых гормонов используют ^{125}I или ^{131}I . Могут быть использованы также химические или ферментативные методы. Они описываются и обсуждаются в литературных источниках, упомянутых ниже. Мечение с помощью радиоактивного йода должно производиться осторожно при минимальном повреждении молекулы.

Налажено промышленное производство высокоспецифических стероидов, меченных радиоактивным тритием.

В нижеследующем списке литературы приведен ряд статей, где рассматриваются методики, источники ошибок и необходимые предосторожности для определения белковых и стероидных гормонов, а также противозачаточных агентов.

- Cameron E. H. D., Hilier S. G., Griffiths K. (Eds). Steroid Immunoassay. Alpha Omega Publishing Ltd, Cardiff, Wales, 1975.
- Diczfalusy E. (Ed.). Steroid Assay by Protein Binding. Second Karolinska Symposium. Stockholm, 1970.
- Hunder W. M., Kirkham K. E. (Eds). Radioimmunoassay Methods. E. S. Livingstone. Edinburgh and London, 1971.
- Karolinska Symposia on Research Methods in Reproductive Endocrinology, 1. Immunoassay of Gonadotrophins. Edited by E. Diczfalusy. Stockholm, 1969.
- Odell W. D., Daughaday W. H. (Eds). Principles of Competitive Protein-binding Assays. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, USA, 1972.
- Skelley D. S., Brown L. P., Besch P. K. Radioimmunoassay. Clinical Chemistry, 1973, v. 19, p. 146—186.
- Sonksen R. H. (Ed.). Radioimmunoassay and Saturation Analysis. — British Medical Bulletin, 1974, v. 30, p. 1—103.
- World Health Organization. Radioimmunoassay of Hormones for Clinical Trials of Fertility Regulating Agents in Developing Countries. Technical Report Series No. 578, 1975.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ИММУНОАНАЛИЗЫ

Значительным достижением в области аналитических методов явилась разработка ферментативных иммуносорбентных анализов (ФИСА). Они основаны на том же принципе, что и радиоиммуноанализы (РИА), за исключением того, что при применении методов ФИСА радиоактивная метка, используемая при РИА, заменяется ферментативной меткой. ФИСА имеют следующие преимущества по сравнению с РИА:

1. Исключается опасность, связанная с применением радиоактивного материала.
2. Для анализов не требуется специализированной аппаратуры, например радиоактивных счетчиков, их можно проводить в лабораториях, не располагающих особо сложным оборудованием.
3. Срок хранения реактивов больше, чем радиоактивных веществ.
4. Анализ при помощи метода ФИСА обходится дешевле, чем при помощи РИА.

Фермент можно соединить с антигеном или антителом, в зависимости от того, ставится ли прямой анализ или анализ типа «сэндвича». Белковые антигены соединяются с ферментом при помощи таких реактивов, как глютаральдегид [Augsteas, 1976] или 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодимид гидрохлорида (ЭКДИ). Стероидные гормоны соединяются с ферментами при помощи таких мостиков, как гемисукцинат или гемиглутарат [den Hollander et al., 1974]. В качестве метки при этих анализах избирают соответствующий фермент, чтобы: 1) анализ активности его был несложным; 2) имел бы интенсивный кругооборот; 3) выдерживал бы длительное хранение. Обычно применяют следующие ферменты: пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, глюкозооксидаза, пенициллиназа и β -галактозидаза. Желательно

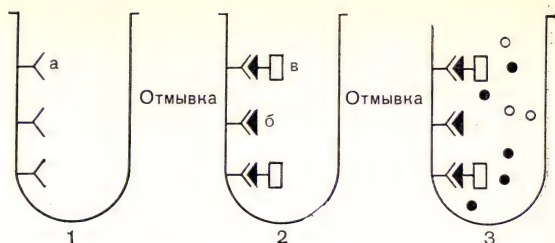


Рис. 13. ФИСА для ХГЧ. 1 — антитела (а), прикрепленные к поверхности полистиреновых пробирок; 2 — сыворотка (содержащая ХГЧ) (б) и известное количество конъюгата ХГЧ — фермент (в) добавляются, чтобы конкурировать за связь с ограниченным количеством антител; 3 — прибавляется субстрат (белые кружки) и активность фермента измеряется путем колориметрической оценки продукта (черные кружки).



Рис. 14. Схематическое изображение «сэндвичного» типа ФИСА для антител.

применять такие ферменты, как пенициллиназа, так как они отсутствуют в биологических жидкостях.

Для того чтобы проиллюстрировать ФИСА, связанные с ферментом, приведем пример выявления ХГЧ; этот метод может быть использован для подтверждения беременности (рис. 13).

Были разработаны многочисленные варианты ФИСА. Принцип, на котором базировался первый опубликованный метод ФИСА [Engvall et al., 1971], был совершенно таким же, как принцип РИА, изложенный выше; антиген в исследуемых сыворотках конкурирует с известным количеством антигена, связанного с ферментом, за соединение с ограниченным количеством антител, нанесенных на поверхность полистире-

новых пробирок. Существует еще один хороший вариант, а именно «сандвичный» анализ, который можно поставить в лунках пластин для микроагглютинации. Благодаря этому методу теперь проще проводить в широких масштабах предварительный отбор сывороток, содержащих антитела к микробным, вирусным и паразитарным антигенам, что может быть очень важным во время эпидемий [Voller et al., 1974]. По этому принципу можно исследовать наличие антител, например, к токсоплазмам, как изображено в виде схемы на рис. 14.

Rubinstein с соавт. (1972) предложили «гомогенный» ферментативный анализ на препараты опия в слюне и моче. Достоинство этого метода заключается в том, что он не требует разделения свободных и связанных ферментных конъюгатов.

В последнее время был опубликован ряд обзорных статей, в которых можно познакомиться с различными методами, предложенными для определения антигенов, антител и гапте-нов по принципу ФИСА [Feldman et al., 1976; Sharpe et al., 1976; Schuurs, van Weeman, 1977].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Avrameas S.* — In: *Methods in Enzymology*, v. 44, p. 709, Edited by Klaus Mosbach. Academic Press, New York, 1976.
- Bauminger S., Kohen F., Linder H. R.* — *Journal of Steroid Biochemistry*, 1974, v. 5, p. 739.
- Engvall E., Jonsson K., Perlmann P.* — *Biochemica et biophysica acta*, 1971, v. 251, p. 427.
- Feldmann G., Druet P., Bignon J., Avrameas S. (Eds.)*. *Immunoenzymatic Techniques*, p. 509. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1976.
- den Hollander F. C., van Weeman B. K., Woods G. F.* — *Steroids*, 1974, v. 23, p. 549.
- Rubenstein K. E., Schneider R. S., Ulman E. F.* — *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1972, v. 47, p. 846.
- Schuurs A. H. W. M., van Weeman B. K.* — *Clinica chimica acta*, 1977, v. 81, p. 1.
- Sharpe S. L., Cooremen W. H., Blomme W. J., Leekeman G. M.* — *Clinical Chemistry*, 1976, v. 22, p. 733.
- Vaitukaitis J. L., Braunstein G. D., Ross G. T.* — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1972, v. 113, p. 751.
- Voller A., Bidwell L., Huldt G., Engvall E.* — *Bulletin of the World Health Organization*, 1974, v. 51, p. 209.

ГЛАВА 7

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К КОНТРАЦЕПЦИИ

ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Иммунный ответ характеризуется специфичностью реакции на антигенные детерминанты. Это свойство допускает избира-

тельное воздействие на молекулы-мишени. Если молекулы-мишени выбраны так, что они ограничены репродуктивной системой и не встречаются в других тканях, то можно воздействовать специфически на репродуктивные процессы без генерализованного влияния на другие ткани и жидкости организма.

Репродукция млекопитающих проходит ряд этапов; чувствительные к иммунному воздействию этапы этого процесса будут обсуждаться в главе 8.

ТИПЫ ИММУННОГО ОТВЕТА

Иммунизация большинством антигенов вызывает как анти-тельные, так и клеточные иммунные реакции (клеточно-опосредованный иммунитет — КОИ). Однако известны случаи, когда преобладает гуморальный ответ. Природа используемого адъюванта, путь и схема иммунизации могут избирательно усилить тот или иной тип ответа.

Антитела соответствующего типа успешно воздействуют на молекулы внеклеточной среды и на поверхности клеток, но для воздействия на внутриклеточный и клеточный материал обычно необходим КОИ.

Чтобы получить лизис клеток с помощью антител к поверхностным антигенам, антитела должны принадлежать к такому классу, который способен активировать комплемент. Чтобы вызвать агрегацию и преципитацию антитела должны быть поливалентными. Для взаимодействия с антигенами плода антитела должны быть класса IgG, чтобы проходить через плаценту. Если молекулы мишени содержатся в секретах слизистых оболочек, наиболее эффективными будут антитела, принадлежащие к секреторному IgA классу. Образования реактивных антител IgE следует по возможности избегать, так как они приводят к развитию нежелательных реакций гиперчувствительности.

Относительные концентрации антигена и антител могут определять тип образуемых комплексов и их дальнейшую судьбу. В зоне эквивалентности происходит максимальная преципитация. При избытке антител по отношению к соответствующему антигену антиген полностью нейтрализуется антителами в том случае, когда аффинитет и авидность антител высоки. Эти комплексы уничтожаются фагоцитами и не приводят к заметному ущербу для организма. Вместе с тем если антиген присутствует в избытке по отношению к антителам, то образуются растворимые комплексы с тенденцией к отложению на базальной мембране почек, сосудистых сплетений и других богатых капиллярами тканей. Во избежание подобных явлений иммунологические методы должны быть рассчитаны так, чтобы по возможности обеспечивать избыток антител.

Размер комплекса антиген — антитело важен для связывания и активации комплемента. Агрегаты с константой седиментации выше 19S связывают комплемент.

СОПОСТАВЛЕНИЕ МЕСТНОГО И СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА

При решении вопроса о том, куда должна быть направлена иммунологическая атака, важно принимать во внимание локализацию молекул-мишеней и частей тела, через которые они проходят. Если иммунизация направлена против антигенов спермы, она должна действовать на месте ее образования (семенники), созревания и транспорта (добавочные мужские репродуктивные органы) или в месте попадания (женские половые пути). Аутоиммунизация антигенами спермы происходит в мужском организме, а изоиммунизация — в женском. Присутствия антител и сенсibilизированных лимфоцитов в кровеносном русле недостаточно; они должны выполнять свои функции в половом тракте. Действительно, местный иммунитет более важен, чем системный. Вопрос о значении местного иммунитета в половом тракте был рассмотрен недавно в обзоре Cinader, de Weck (1976), который дает представление об уровне наших познаний в этой области и о практической стороне вопроса.

Если иммунизация направлена против агента, который циркулирует в крови, например плацентарного гормона ХГЧ, то достаточно обеспечить присутствие в крови антител, способных связываться с этим гормоном и нейтрализовать его биологическую активность. Схемы иммунизации, используемые адъюванты и пути введения должны соответствовать задаче получения выраженного антительного ответа.

АКТИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ И ПАССИВНЫЙ ПЕРЕНОС АНТИТЕЛ ДЛЯ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Возможны два различных подхода к иммунизации. Преимущества и недостатки их вкратце обсуждаются ниже.

Активная иммунизация означает введение реципиенту антигена (антигенов) и продукцию им антител (и КОИ) к этому антигену. В организме реципиента антитела и КОИ способны нейтрализовать антиген при встрече с ним. Организм постоянно находится в состоянии боевой готовности по отношению к данному антигену, пока продолжается иммунный ответ.

При пассивной иммунизации индивид получает готовые антитела с определенной целью — вмешаться в действие агента. Период действия пассивного иммунитета равен продолжительности биологической жизни введенных антител и антигена. Если антитела направлены против вещества, важного для сохранения беременности, скажем ХГЧ, то их вве-

ление прервет беременность. Эффект этот будет, однако, непродолжительным и каждый раз, когда необходимо будет прервать беременность, потребуется новая порция антител. Напротив, при активной иммунизации (или вакцинации) защита продолжается в течение нескольких месяцев и даже лет в зависимости от природы антигена и применяемых адъювантов.

Очевидно, что активная иммунизация является методом выбора для широкомасштабных программ ограничения рождаемости. Однако если молекула-мишень характеризуется низким кругооборотом, то возможно и пассивное применение антител. Этот последний метод можно рассматривать как ауторегуляцию.

На практике возможности широкомасштабной пассивной иммунизации ограничиваются трудностями в получении человеческих антител, направленных против соответствующих антигенов. Доноров очень мало. Кроме того, от них необходимо брать кровь в довольно больших объемах, чтобы получить достаточно материала для иммунизации. Трудности, связанные с гипериммунизацией доноров-добровольцев при помощи безвредных адъювантов, также ограничивают возможности получения антител в требуемых количествах. Другой принцип заключается в использовании антител, полученных у животных. Однако такие антитела можно использовать лишь однократно, так как повторное применение их связано с риском развития сывороточной болезни. Необходимо изучить возможность использования высших и низших обезьян, т. е. видов, наиболее близких человеку, для выработки анти-

Таблица 2. Сравнение основных особенностей активного и пассивного иммунитета для контроля рождаемости

Активный		Пассивный
Вводимый материал	Антиген	Антитело
Необходимые количества	Малые	Большие, зависящие от антигена, который необходимо нейтрализовать
Продолжительность действия	В течение всего периода выработки антител	Ограниченная. Повторяется каждый раз, когда появляется антиген
Побочное действие	Должно быть исследовано в течение длительного периода	Не описано для однократной инъекции. Риск развития антиаллотипических антител, анафилактики и сывороточной болезни при повторных введениях гетероантител
Обратимость	Необходимо устанавливать для каждой вакцины	Полная

тел. Возможно, что иммуноглобулины приматов ввиду сходства с человеческими будут слабоиммуногенными. Таким образом, они могут оказаться пригодными для пассивной иммунизации человека. В любом случае они будут иметь преимущества по сравнению с лошадиными антителами, обычно используемыми при приготовлении сывороток для пассивной иммунотерапии столбняка и дифтерии.

В табл. 2 вкратце изложены основные особенности, преимущества и недостатки активной и пассивной иммунизации.

В последнее время были созданы гибридомы (гибрид миеломы с клеткой, продуцирующей специфические антитела). Это открывает перед нами новые перспективы получения антител определенной специфичности и авидности в культуре клеток. Возможно, тем самым удастся значительно облегчить практическое применение методов пассивной иммунизации для контроля рождаемости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Cinader B., de Weck A. (Eds). — Immunological Response of the Female Reproductive Tract. Scriptor. Copenhagen, 1976.

ГЛАВА 8

РЕПРОДУКТИВНАЯ СИСТЕМА: ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННЫЕ ИММУННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Репродукция млекопитающих осуществляется путем соединения гамет мужского и женского организмов данного вида. Яйцеклетка и сперматозоиды вырабатываются соответствующими гонадами под влиянием гормонов (гонадотропинов), выделяемых гипофизом. Секреция гипофизарных гормонов в свою очередь регулируется двумя категориями сигналов: одной — с периферии от желез мишеней для гонадотропинов и другой — от нервных клеток. В нервных клетках гипоталамуса вырабатывается декапептид (рилизинг-гормон), функция которого — запуск выделения гипофизом лютеинизирующего (ЛГ) и, возможно также, фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов. Первичная структура этого декапептида, называемого рилизинг-гормоном лютеинизирующего гормона (ЛГ-РГ), была установлена группами Andrew Schally [Matsuo et al., 1971] и Roger Guillemin [Anos et al., 1971] 9 лет назад, за что они получили Нобелевскую премию в 1977 г. Возможности изготовления этого пептида из коммерческих материалов обеспечили его использование для регуляции рождаемости. Антитела к ЛГ-РГ блокируют фертильность

как у мужчин, так и у женщин, так как молекула гормона, стимулирующая секрецию гонадотропинов, одинакова у обоих полов.

Секреция гонадотропинов гипофизом контролируется по принципу отрицательной обратной связи уровнем половых стероидов. Согласно новейшим данным, у мужчин клетки Сертоли вырабатывают белковый продукт, тормозящий секрецию ФСГ гипофизом [Steinberger A., Steinberger E., 1976]. Макромолекула с антигонадотропными свойствами была обнаружена также в моче [Banerji et al., 1977].

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ) действуют последовательно для поддержания гаметогенеза. У женщины под влиянием гормонов происходит рост и созревание фолликула, за которым следует выброс яйцеклетки (овуляция). У мужчин роль ФСГ в сперматогенезе вызвала сомнение в связи с наблюдениями, относящимися главным образом к грызунам. Однако результаты недавних экспериментов на приматах со специфически реагирующими анти-ФСГ-сыворотками убедительно указывают на участие ФСГ в регуляции сперматогенеза [Murthy et al., 1979]. Гонадотропины гипофиза действуют на клетки яичника и семенника еще в одном важном отношении. Они стимулируют выработку половых стероидов. Лютеинизирующий гормон действует на клетки Лейдига, вырабатывающие тестостерон. Этот же гормон стимулирует синтез и секрецию прогестерона и эстрогенов желтым телом яичника. Химическая природа гонадотропинов, вырабатываемых гипофизом мужчин или женщин, идентична; различия же в ответных реакциях определяются в основном свойствами клеток-мишеней.

Половые стероиды играют определенную роль в репродуктивных процессах. Тестостерон участвует в процессе созревания сперматозоидов, а также в поддержании функций добавочных мужских репродуктивных органов. Эстрогены оказывают выраженное действие на пролиферацию эпителия матки и влагалища. Они также подготавливают матку к реакции на прогестерон путем индукции в ее ткани «рецепторов» этого гормона. Прогестативные гормоны подготавливают матку к имплантации эмбриона и сохранению беременности. Эти гормоны, однако, действуют также и на другие ткани, не связанные непосредственно с репродукцией. Следовательно, их потеря будет сопровождаться побочными явлениями, хотя репродукция может быть и блокирована.

Сперматозоиды после образования в семенниках созревают в придатке яичка (эпидидимусе). Они эякулируются вместе с секретами добавочных репродуктивных органов. Семенная жидкость содержит ряд компонентов, включая энергетические вещества (например, фруктозу), ионы металлов, макро- и микромолекулы [Mann, 1975]. Функции всех ком-

понентов семенной плазмы еще не вполне изучены. Некоторые из них прямо или косвенно влияют на оплодотворяющую способность спермы. Примером может служить фактор, улучшающий подвижность и жизнеспособность спермы [Gaur, Talwar, 1973, 1975; Bavister, Yanagimachi, 1977]. Сперма нуждается в «капситации», происходящей в женском половом тракте. Капситированная сперма способна к оплодотворению яйцеклетки. Однако для этого она должна достичь яйцевода. На восхождение спермы из влагалища в яйцевод влияют как благоприятные, так и неблагоприятные факторы. Цервикальные секреты в течение эстральной фазы цикла способствуют прохождению спермы, в то время как цервикальная слизь в лютеиновую фазу цикла, когда преобладает прогестерон, оказывается барьером для сперматозоидов. В случаях бесплодия неустановленной этиологии цервикальные секреты могут содержать сперматоцитотоксические анти-тела.

Сперматозоиды содержат отцовскую генетическую информацию. В головке сперматозоида, проникающей в яйцеклетку при оплодотворении, упакована ДНК, соответствующая 23 хромосомам. Головка сперматозоида покрыта похожей на колпачок структурой — акросомой. Она сходна с лизосомами и содержит набор гидролитических ферментов. Эти ферменты важны для проникновения сперматозоида через яйценосный бугорок и оболочки яйцеклетки. Предполагается, что некоторые акросомальные ферменты играют также роль в оплодотворении яйцеклетки. Теоретически ингибиторы этих ферментов, или антитела, инактивирующие их, могут препятствовать взаимодействию сперматозоида и яйцеклетки.

Яйцеклетка окружена блестящей оболочкой (*zona pellucida*), на поверхности которой расположены «рецепторы» для прикрепления сперматозоидов. Антитела к этим рецепторам (или близким им белкам) могут скрыть их от сперматозоидов и предотвращать оплодотворение.

Оплодотворенная яйцеклетка проходит ряд стадий развития, прежде чем превратиться в бластоцисту, готовую к имплантации. В течение этих стадий появляются «стадиоспецифические» эмбриональные белки. Некоторые из них исчезают с переходом эмбриона в следующую стадию. Они также могут служить прекрасными мишенями. Иммунный ответ против них вызвать особенно важно ввиду того, что некоторые из этих белков сходны (иммунологически перекрестно реагируют) с белками тератокарцином.

Имплантация — точно регулируемый процесс, оба участника которого — имплантирующаяся бластоциста и эндометрий должны иметь определенные свойства. При незрелости эмбриона или неподготовленности матки nidация не состоится. Созревание эмбриона — внутренне запрограммированный, но зависимый от времени процесс. Подготовка эндо-

метрия нуждается в последовательном взаимодействии слизистой оболочки матки со стероидными гормонами яичника. Дальнейшее существование имплантированного эмбриона также требует поддержки (гормональной стимуляции) прогестативными гормонами, и если их выработка или действие будут нарушены, то беременность прерывается. Стимул к стероидогенезу в ранний период беременности, очевидно, обеспечивается имплантирующейся бластоцистой в форме ХГЧ и, возможно, других продуктов [Talwar, 1979].

Развитие эмбриона сопровождается появлением особого органа (другой ткани) плаценты, которая играет решающую роль в обеспечении роста и выживания плода. Плацента — уникальный орган, обладающий способностью синтезировать как белковые, так и стероидные гормоны. Нарушение функции плаценты ведет к прерыванию беременности. Плацента имеет ряд тканевоспецифических белков, уровень которых в крови служит показателем нормального функционирования плаценты. Они также могут быть антигенами-мишенями, и в настоящее время исследуется возможность индукции иммунного ответа против плацентарных белков с целью прерывания беременности.

Короче говоря, репродукция млекопитающих зависит от большого числа гормонов и важнейших процессов. Они показаны на рис. 15, 16. Теоретически эффективный иммунный ответ против одной или нескольких «критических» молекул может привести к бесплодию. Однако на практике не все теоретически доступные цели находятся в пределах достигаемого.

Вмешательства на уровне ЛГ-РГ, гонадотропинов и половых стероидов (прогестерон, эстрадиол, андрогены), хотя и способствуют ограничению плодовитости, сопровождаются побочными явлениями вследствие потери организмом половых стероидных гормонов. Половые стероидные гормоны действуют не только на органы репродуктивного тракта, но и на другие ткани. Рецепторы эстрогенов имеются в гипофизе, в некоторых областях мозга (включая эпифиз), в печени, коже, сердце и т. д., помимо влагалища, матки и молочных желез.

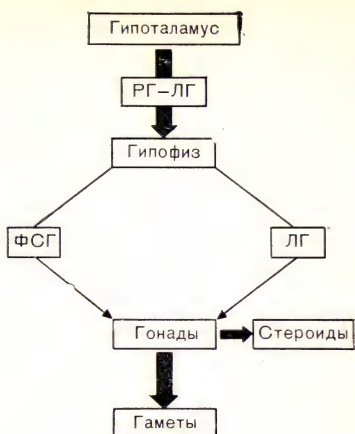


Рис. 15. Основные гормоны, необходимые для репродукции. Иммунологический перехват любого из них или комбинации этих гормонов будет блокировать фертильность. Противопоказания обсуждены в тексте.

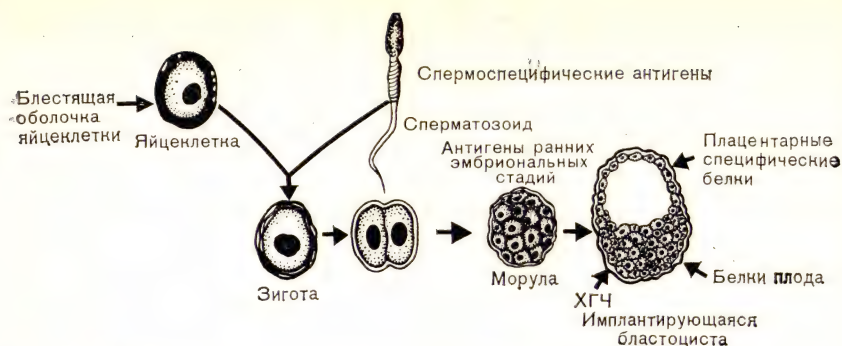


Рис. 16. Антигены, специфически связанные (ассоциированные) с яйцеклеткой и сперматозоидом, могут быть мишенями для иммунологического вмешательства. Другими антигенами, представляющими интерес, могут быть: стадиоспецифические белки, появляющиеся на ранних этапах эмбрионального развития и перекрестно реагирующие с тератомами; продуцируемые имплантирующейся бластоцистой и важные для успеха репродукции.

Андрогены обладают анаболическим действием на мышцы и другие ткани.

Антитела против стероидных гормонов или против их тропных гормонов вызовут нежелательные эффекты, практически равнозначные симптомам климакса. Потеря отрицательной обратной связи, осуществляемой стероидами, нарушит соотношение между гипофизом и эндокринными железами-мишенями, что приведет к гиперсекреции гонадотропинов. Именно так обстояло дело при иммунизации тестостероном [Nieschlag et al., 1975]. Таким образом, эти гормоны — недопустимые мишени для иммунологических воздействий, рассчитанных на применение у человека. Однако ряд таких вмешательств может быть использован в ветеринарии, как указано в главе 13.

Мишенями для иммунологического вмешательства могут служить:

1. Антигены, связанные с гаметам и специфические для яйцеклетки и сперматозоида.

2. Антигены ранних эмбриональных стадий.

3. «Сигналы», генерируемые имплантирующейся бластоцистой в начале беременности и ранние биологически и структурно важные белки, специфические для плаценты.

В следующих главах обсуждаются положительные и отрицательные стороны создания «вакцин», рассчитанных на индукцию иммунного ответа против этих белков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Amoss M., Burgus R., Blackwell R. et al. — Biochemical and Biophysical Research Communications, 1971, v. 44, p. 205.
Banerji A. P., Kothari S., Shah P. N. — Endokrinologie, 1977, v. 39, p. 3.

- Bavister B. D., Yanagimachi R.* — Biology of Reproduction, 1977, v. 16, p. 228.
- Gaur R. D., Talwar G. P.* — Nature, 1973, v. 244, p. 450.
- Gaur R. D., Talwar G. P.* — International Journal of Fertility, 1975, v. 20, p. 133.
- Mann T.* — In: Handbook of Physiology, v. V, p. 461. Edited by R. O. Greep and E. B. Astwood. American Physiological Society, Washington D. C., 1975.
- Matsuo H., Baba Y., Nair R. M. G. et al.* — Biochemical and Biophysical Research Communications, 1971, v. 43, p. 1334.
- Murthy H. M. S., Rama Sharma K., Srinath B. R., Moudgal N. R.* VII Congress of the International Primatological Society. Bangalore, India, 1979.
- Nieschlag E., Usadel K. H., Wickings E. J. et al.* — In: Immunization with Hormones in Reproduction Research, p. 155. Edited by E. Nieschlag. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1975.
- Steinberger A., Steinberger E.* — Endocrinology, 1976, v. 99, p. 918.
- Talwar G. P.* Plenary Lecture, V. Intl. Congr. on Hormonal Steroids. — Journal of Steroid Biochemistry (Suppl.), 1979, v. 11, p. 27.

ГЛАВА 9

ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ МУЖСКИХ АНТИГЕНОВ

ВСТУПЛЕНИЕ

Более 75 лет назад были предприняты, насколько это известно, первые попытки иммунизировать животных антигенами мужских половых клеток. Два выдающихся иммунолога, Landsteiner (1899) и Metchnikoff (1899), почти одновременно поставили аналогичные эксперименты, показавшие, что после инъекции спермы и мацерированного материала семенников животным другого вида у них образуются антитела, реагирующие со сперматозоидами. С тех пор ряду различных животных: морским свинкам, курам, кроликам, овцам, обезьянам, крупному рогатому скоту, лошадям и человеку вводили сперматозоиды, семенную плазму, цельную сперму или гомогенаты семенников от особей гомологичных или гетерологичных видов. Результаты этих исследований описаны в многочисленных публикациях. Для иммунизации применялся материал, полученный из того же организма (аутоиммунизация), материал от другого представителя того же вида, чаще всего антигенный материал от самцов, вводился самкам (изоиммунизация), и, наконец, антитела получали у разных видов (гетероиммунизация), например, у кролика к человеческим антигенам. Результаты были различны в зависимости от антигенного материала, путей иммунизации и ее схемы и применявшихся адъювантов. Эти исследования прекрасно отражены в ряде детальных обзоров [Katsh, 1959; Tyler, 1961; Behrman, 1968], и мы не будем пытаться полностью их описывать

(в период с 1900 по 1968 г. Вейгман насчитал в литературе более 130 статей). В настоящей главе мы ставим перед собой задачу проанализировать современное состояние этой проблемы и, в частности, обратиться к возможностям получения вакцин, основанных на мужских антигенах (антигены мужских половых клеток) для регуляции рождаемости.

ИСТОЧНИКИ КРИТИЧЕСКОГО АНТИГЕНА [АНТИГЕНОВ]

В прошлом применялись всевозможные препараты: гомогенаты семенников, экстракты придатка яичка (эпидидимиса), цельная сперма и семенная плазма. В общем неочищенные препараты обладают большей иммуногенностью, чем препараты более простого состава. Однако, учитывая тот факт, что семенники, головной мозг и кора надпочечников (а возможно, и другие ткани) имеют общие антигены, можно понять, что использование экстрактов из цельного органа привело бы к нежелательным перекрестным реакциям с другими тканями, а идеальный антиген(ы) должен быть специфичным для ткани мишени и не должен реагировать с другими органами. Таким образом, исходный материал должен быть по возможности свободен от «ненужных» антигенов.

Хотя огромные усилия были затрачены на работу с продуктами добавочных мужских половых желез, до сих пор не получено убедительных доказательств их способности вызывать образование антител, нарушающих фертильность. В этих секретах присутствуют минимум 9 антигенов [Rao et al., 1961]; некоторые из них обладают настолько высокой иммуногенной способностью, что могут замаскировать относительно слабые антигены сперматозоидов. Поэтому было бы, вероятно, желательно избегать использования цельной спермы и неотмытых сперматозоидов, которые, очевидно, покрыты компонентами семенной плазмы.

Ряд весьма интересных опытов [Menge, 1970] на кроликах и крупном рогатом скоте доказал, что сыворотки, полученные против зрелых семенников, спермы и эпидидимальных сперматозоидов, подавляют плодовитость в отличие от сывороток против незрелых семенников или семенной плазмы (табл. 3). Таким образом, зрелые сперматозоиды, возможно, могут послужить хорошим источником материала для выделения антифертильных антигенов.

Этот материал без примесей компонентов семенной плазмы можно получить из эпидидимиса. После достаточного отмытия для этой цели может быть использована также эякулированная сперма. Эксперименты Kummerfeld с соавт. (1976) также доказали, что эпидидимальные сперматозоиды могут служить хранилищем «нужных» антигенов. Крольчих иммунизировали эпидидимальной спермой и адьювантом. Вскоре после появления антител они становились бесплод-

Таблица 3. Действие антител к различным компонентам спермы на плодовитость у крольчих (К) и телок (Т)
[Menge, 1970]

Сперма обработанная (сывороткой)	Обследованные животные	Антифертильный эффект	Спермаг-глютинины
Нормальная сыворотка	К, Т	—	—
Антисыворотка к:			
сперме	К, Т	+	++
эпидидимальным сперматозоидам	К	+	++
зрелым семенникам	К	+	+
незрелым семенникам	К, Т	—	±
семенной плазме	К, Т	—	++
плоду	К, Т	—	++
мозгу	К	—	+
яичникам	К	—	—
сыворотке	К	—	—
эритроцитам	К, Т	—	—
цервикальной слизи телки:			
а) нормальная	К, Т	—	—
б) антиспермальная	К, Т	+	+

ными; по мере того как эти антитела разрушались, восстанавливалась нормальная плодовитость.

Следующей задачей является идентификация и выделение компонентов, которые хранят в себе важнейшую информацию эпидидимальных сперматозоидов в качестве антигенов, подавляющих плодовитость, использование которых позволило бы избежать перекрестных реакций с другими тканями. Исследования в этой области продвинулись вперед, и удалось получить в высокоочищенном виде ряд ауто- и изоантигенов. Некоторые из них оказались также специфическими для спермы. Мы остановимся на них позднее в данной главе.

ВСЕ ЛИ СПЕРМАТОЗОИДЫ ИДЕНТИЧНЫ В АНТИГЕННОМ ОТНОШЕНИИ!

Хорошо известно, что во время коитуса в женский половой тракт внедряется очень большое количество сперматозоидов. Однако лишь небольшое число их в конечном счете можно обнаружить в яйцевом, т. е. там, где происходит оплодотворение яйцеклетки. На основании работ Cohen, Werrett (1975) можно полагать, что существуют две популяции сперматозоидов, которые различаются своей способностью прилипания к поверхности, причем для оплодотворения важна только популяция, представленная меньшинством сперматозоидов. Эта гипотеза основана на том, что большинство сперматозоидов, обнаруживаемых в матке мыши, покрыты мышинным IgG, однако небольшое количество лишено такого

покрытия. Напротив, сперматозоиды в яйцевом отношении относятся в основном к непокрытой популяции. Austin (1960) на несколько лет раньше сообщил о том, что акросомы кроличьих сперматозоидов покрываются IgG до- или во время их разрушения фагоцитозом. Отсюда можно сделать косвенный вывод о том, что покрытая популяция сперматозоидов более чувствительна к разрушению фагоцитарными клетками. Согласно данным, полученным Cohen, Werrett, меньшая популяция, которая не покрывается иммуноглобулинами, в антигенном отношении отличается от большей популяции. Если эти наблюдения будут подтверждены и сделаны также на других видах животных, то необходимо будет направить иммунологическую атаку против меньшей, но высокоплодовой (фертильной) популяции сперматозоидов. Пока что механизм покрытия IgG не ясен, так же как и вопрос о том, направлены ли покрывающие иммуноглобулины против специфических антигенов или же это просто случай неспецифического прилипания.

АУТО- И ИЗОИММУНИЗАЦИЯ

В главе 2 указывалось, что у некоторых бесплодных пациентов сыворотки и сперма содержат спермальные агглютинины. После вазэктомии примерно у 50 % мужчин образуются антитела к их сперматозоидам. Очевидно, образование этих антител индуцируется экстравазацией спермы. Эти наблюдения ясно указывают на аутоантигенность сперматозоидов у человека.

Самые первые эксперименты по вопросу об образовании антител к сперматозоидам у морских свинок, получивших сперматозоиды от животных того же вида, были поставлены Metalnikoff в 1900 г. Затем последовало множество других исследований. Современная информация относительно ауто-спермальных антигенов (антигенов собственной спермы) и индукции семенникового асперматогенеза в основном базируется на работах Voisin, Freund, Katsh, Mancini, Behrman, Menge, Eyquem, Rümke и их соавторов.

Аутоиммунизация с полным адьювантом Фрейнда и без него

Необходимо различать два типа реакции организма на собственную сперму. У сингенных животных можно вызвать образование антиспермальных аутоантител, не пользуясь полным адьювантом Фрейнда (ПАФ), однако необходимы более высокие дозы антигенов [Rümke, Titus, 1970]. В этих случаях нельзя обнаружить повреждения семенников, и хотя циркулирующая кровь содержит спермагглютинины, сперматогенез сохраняется нормальным. Вместе с тем если для иммунизации

применяются сперматозоиды и ПАФ, то в организме вызывается не только сильный иммунный ответ, но, кроме того, повреждаются семенники и блокируется сперматогенез. Повреждение начинается с торможения созревания сперматозоидов, затем наступает дегенерация и эксфолиация сперматид, сперматоцитов и, наконец, сперматогоний [Freund et al., 1953]. В интерстициальном пространстве и клетках Лейдига не было обнаружено существенных изменений.

Важная роль ПАФ при аутоиммунном повреждении семенников получила два объяснения. 1. Возможно, что ПАФ обеспечивает ответ типа «отторжения» в отличие от «усиливающего типа» ответа на антиген и неполный адъювант Фрейнда (НАФ). 2. Возможно, что ПАФ влияет на гематотестикулярный барьер (барьер между кровью и семенниками) [Katsh, 1964], и, таким образом, антитела и сенсibilизированные клетки могут проникнуть в семенники, что ведет к повреждению ткани. Простой пассивный перенос антител и клеток от сенсibilизированных животных не вызывает повреждения [Freund et al., 1955].

Органоспецифичность и видовая специфичность

Асперматогенез, вызываемый сперматозоидами и ПАФ, специфичен для органа и для вида. Препараты печени и почек не вызывают этого явления, так же как и сперматозоиды от животного другого вида [Freund, 1957]. Много споров вызывал вопрос о перекрестной реакции между головным мозгом и семенниками. В экспериментах Freund с соавт. (1953) экстракты мозга, введенные вместе с адъювантом, вызывали легкое торможение сперматогенеза, но антитела не связывали комплемент в реакциях со сперматозоидами, служившими антигенами. Возможно, что антитела были направлены против перекрестно реагирующих антигенов, присутствующих в семенниках, но не в зрелых сперматозоидах. После иммунизации эпидидимальными сперматозоидами не наблюдалось повреждения ЦНС, и среди миллионов мужчин, перенесших вазэктомию, и содержащих аутоантитела, индуцированные спермой, не было зарегистрировано ни одного случая энцефаломиелита.

Роль антител и клеточного иммунитета при аутоиммунном асперматогенезе

Несмотря на то что вопрос о возможности антител или сенсibilизированных клеток самих по себе вызывать повреждение семенников является дискуссионным, более тщательные и хорошо запланированные эксперименты указывают на то, что в этом феномене участвуют как антитела, так и сенсibilизированные клетки. Brown с соавт. (1967) устано-

вили, что в тех экспериментальных условиях, в которых присутствовал только один компонент, например при повышенной чувствительности замедленного типа или при наличии сывороточных антител, семенники не повреждались, тогда как при сочетании двух компонентов у животных можно было наблюдать ясно выраженное поражение. Voisin, Toullet (1969), применяя очищенные аутоантигены, способные вызывать преимущественно ответ типа повышенной чувствительности замедленного типа или антительный ответ, также отметили, что явные поражения, характерные для аутоиммунного асперматогенного орхита, наблюдались только у тех животных, которые путем пассивного или активного переноса получили оба компонента иммунной реакции.

Длительность и обратимость

Индукция спермагглютининов и аутоиммунного асперматогенеза в какой-то мере представляют собой обратимые реакции, имеющие определенную продолжительность. Freund с соавт. (1953) установили, что асперматогенез наступает примерно через 10 дней и продолжается более 5 мес у морских свинок. Rümke, Titus (1970) отметили, что для того, чтобы поддерживать титры антител у экспериментальных животных, необходимо было постоянно продолжать антигенную стимуляцию. В главе 3 обсуждается обратимость появления антиспермальных антител в большинстве, но не во всех случаях при вазэктомии. У человека длительность антительного ответа, вызванного, по-видимому, экстравазацией спермы в большинстве случаев колебалась от 12 до 18 мес. Непонятно, почему в небольшом проценте случаев антитела сохраняются дольше. Возможно, хотя это еще не доказано, что у таких индивидов происходит просачивание сперматозоидов, служащих постоянным антигенным стимулом. На обезьянах и человеке доказана обратимость образования антиспермальных антител после вазэктомии, хотя сперматогенез может в дальнейшем происходить сниженными темпами (см. главу 3).

По данным литературы, первичные сперматоциты и сперматогонии лишены асперматогенного антигена (табл. 4), он появляется только на стадии вторичных сперматоцитов [Katsh, 1960]. Было отмечено также, что циркулирующие спермагглютинирующие антитела, после того как они образовались, не оказывают вредного действия на зародышевый эпителий своего носителя [Friberg, Kjessler, 1975]. Таким образом, антитела, вызывающие асперматогенез, видимо, не направлены против основного аппарата, обеспечивающего восстановление сперматогенеза. Однако клеточные реакции могут, в какой-то мере, повредить неспецифично часть зародышевого эпителия.

Таблица 4. Оплодотворение у крольчих, осемененных спермой, обработанной антисывороткой против зародышевых сперматогенных клеток, находящихся на различных стадиях развития [Menge, 1970]

Сыворотка морской свинки против	Число осемененных крольчих	Яйцеклетки		Титр спермаглюттининов
		число полученных (выделенных)	оплодотворенных	
Незрелых семенников кролика:				
сперматогоний	4	42	91,4	8
первичных сперматозитов	3	24	75,0	16
вторичных сперматозитов	4	39	15,4	128
сперматид	4	36	5,6	512

Очистка аутоантигенов спермы

Не одна группа авторов занималась очисткой антигенов, ответственных за аутоиммунный асперматогенез у морских свинок. Freund с соавт. (1955) получили сильный асперматогенный антиген, резистентный к нагреванию, протеолитическим ферментам и формамиду. Voisin с соавт. (1974) выделили четыре таких антигена — один белковый, один антиген, связанный с мембраной, и минимум два гликопротеина. Были изучены физико-химические и иммунологические свойства трех из них — S, P и T; четвертый антиген Z был утрачен во время диализа. Все они реагируют с истинными аутоантигенами и вызывают аутоиммунный асперматогенный орхит, хотя иммунопатологические механизмы их действия различны. P-Антиген — это белок с молекулярной массой 60 000, который можно обнаружить в акросомах. S-Антиген — гликопротеин с молекулярной массой 160 000, при электрофорезе мигрирующий в зону β 2-глобулинов. Он может разрушаться периодатом и протеолитическими ферментами; содержится в акросомальных гранулах и ядерном колпачке головки. T-Антиген — термолабилен и инактивируется 5 % трихлоруксусной кислотой и периодатом. Его можно обнаружить на цитоплазматических и акросомальных мембранах. Антитела к T-антигену связывают комплемент и могут убивать сперматозоиды. S-Антиген вступает в сильную перекрестную реакцию с соответствующим антигеном кролика.

Katsh с соавт. (1972) выделили из семенников и эпидидимиса морских свинок один антиген с аутоасперматогенными свойствами при введении его в количестве нескольких микрограмм с ПАФ. Очищенный антиген мигрирует в виде одной полосы при электрофорезе в полиакриламидном геле. Это

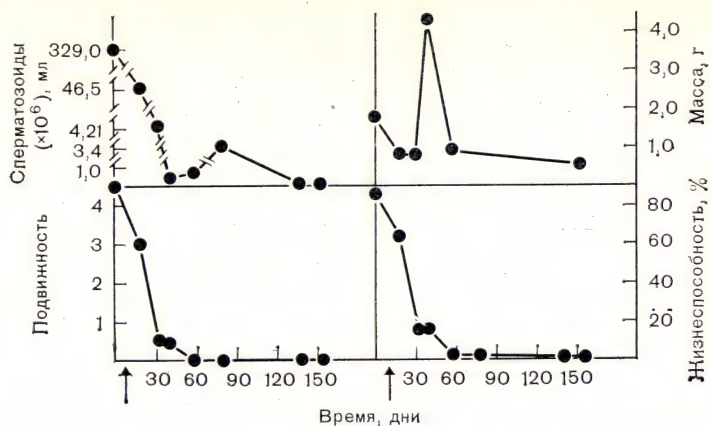
гликопротеин с содержанием углевода около 13 %, его можно обнаружить в акросоме.

Кроме того, был очищен ряд ферментов сперматозоидов до гомогенного состояния. Среди них важнейшими являются ЛДГ-х, гиалуронидаза, сорбитол-дегидрогеназа и акрозин. Они более подробно рассмотрены ниже. Получено доказательство того, что по крайней мере три из них органоспецифичны и могут служить как ауто-, так и изоантигенами.

Другой принцип аутоиммунизации с целью вызвать асперматогенез

Упомянутые выше аутоантигены спермы при системной инъекции с допустимыми адъювантами теоретически могут вызвать образование антиспермальных антител. Однако этого еще недостаточно для получения азооспермии, так как для этого необходимо что-то еще, а не простое присутствие антител. Смогут ли эти антитела агглютинировать сперматозоиды и стерилизовать сперму, будет зависеть от: а) выработки антител в достаточно высоких титрах; б) проникновения адекватного количества антител туда, где образуются, хранятся или транспортируются сперматозоиды. Наблюдается очень большая индивидуальная вариабельность антительного ответа. Таким образом, при использовании этого принципа мы не можем быть уверены, что сперматозоиды удастся инактивировать у всех реципиентов. Кроме того, серьезные проблемы связаны с исходным материалом для приготовления антигенов в больших количествах, если эти антигены не будут слишком просты, чтобы было возможно их синтетическое производство.

Недавно в тех случаях, когда возникают эти трудности, мы испытали иной принцип [Talwar et al., 1979]. Мы хотели использовать иммунные свойства, обусловленные временным развитием семенникового аппарата, для того чтобы получить избирательный и стойкий антигенный стимул, способный вызвать иммунный ответ против «поздно» развивающихся белков спермы. Основные структуры канальцев образуются в периоде внутриутробной жизни, и, следовательно, иммунная система организма рассматривает их как нечто «свое». То же самое относится и к клеткам Лейдига, которые не только образуются в течение эмбрионального периода, но и короткое время функционируют в середине беременности благодаря стимуляции ХГЧ. Сперматогенез начинается только в период полового созревания (пубертатный период). Таким образом, белки, которые появляются в процессе развития зародышевых клеток, «чужеродны» для иммунной системы, и, следовательно, она способна реагировать против них в соответствующих условиях.



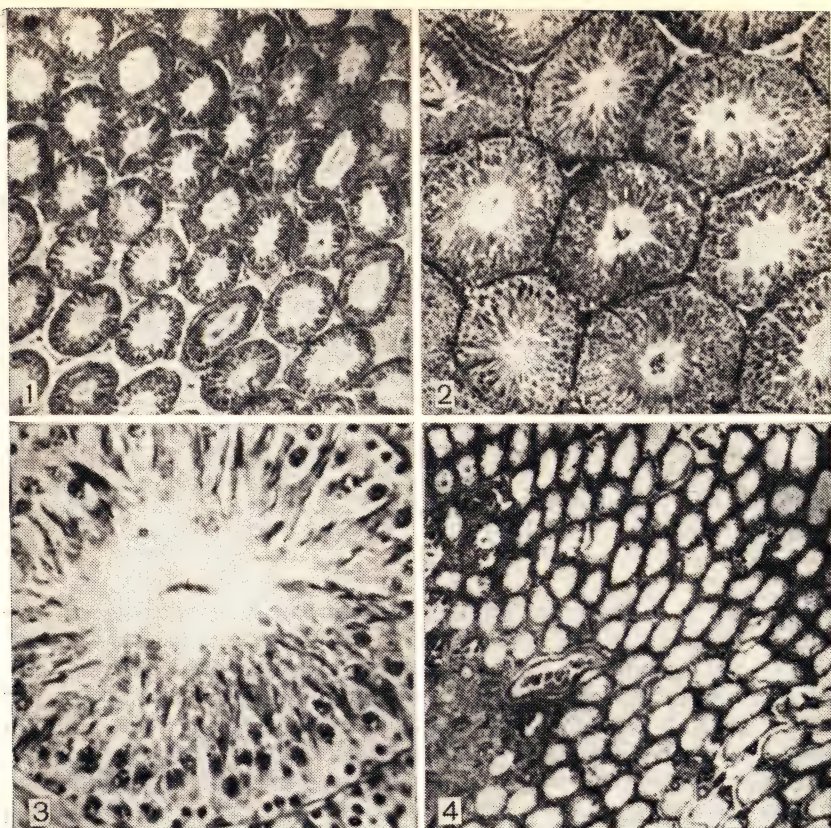


Рис. 18. Гистология семенников крыс, получавших БЦЖ (4, 5, 6, 7, 9). Для сравнения даны срезы семенников нормальных крыс, получавших изотонический раствор хлорида натрия и содержащихся в идентичных условиях (1, 2, 3, 8). Срезы 1—6 и 8 окрашены гематоксилин-эозином, 7 и 9 — ШИК-гематоксилином. Увеличение: 1, 4 — $\times 100$; 2, 5 — $\times 250$; 3, 6, 8 — $\times 1000$; 7 — $\times 500$; 9 — $\times 1250$ [по Talwar et al., 1979]. Видно отсутствие сформированных сперматозоидов в семенниках крыс, получавших инъекции БЦЖ. Основная мембрана, перитубулярные клетки (6, 7) и клетки Лейдига интактны.

Разовая инъекция БЦЖ в соответствующих дозах вызвала олиго- или азооспермию у ряда исследованных видов животных, например у крыс, морских свинок, кроликов, баранов, собак и макак резусов, через 4—6 нед [Talwar et al., 1979]. Немногочисленные сперматозоиды, найденные в семени, были неподвижны (рис. 17). При гистологическом исследовании семенников была обнаружена частичная или полная атрофия примерно 98 % канальцев. Однако базальная мембрана во

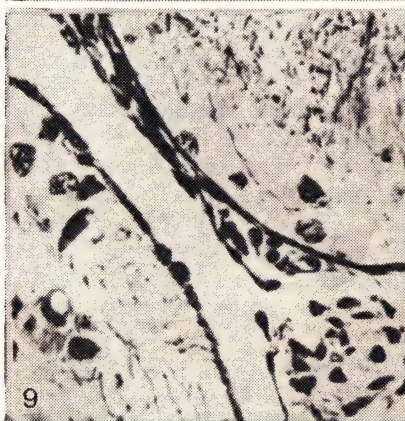
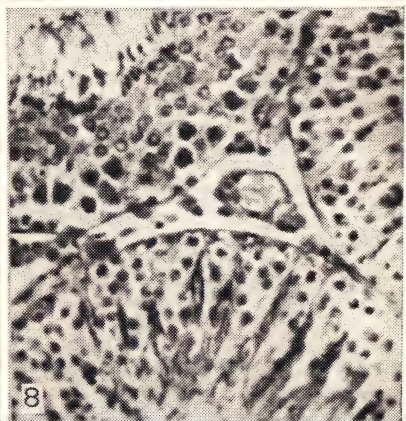
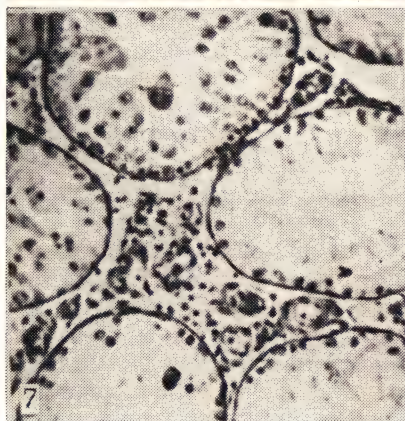
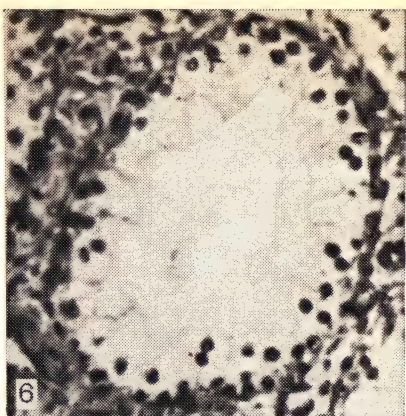
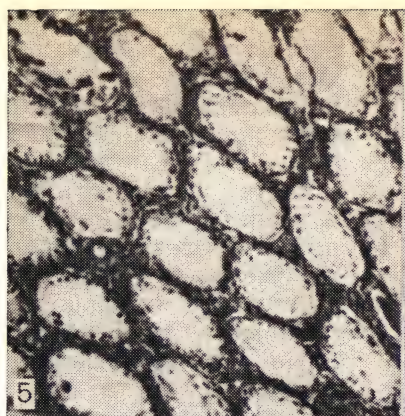


Рис. 18 (продолжение).

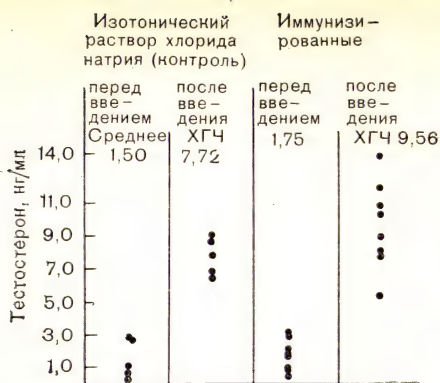


Рис. 19. Уровень тестостерона в плазме крови у крыс, получивших в семенники инъекции БЦЖ или изотонического раствора хлорида натрия. Черные точки — индивидуальное для каждого животного значение. После измерения основного уровня гормона в крови животным вводили по 0,75 МЕ ХГЧ внутримышечно для оценки реактивности клеток Лейдига контрольных и иммунизированных животных на стимуляцию гонадотропином. Показан уровень тестостерона в крови через 6 ч после введения ХГЧ [по Talwar et al., 1979].

изменен каким-либо закономерным образом; 2) нормальной реакции на нагрузочную дозу гонадотропинов (рис. 19). Типичные данные, иллюстрирующие эти наблюдения, приведены на рис. 17—19. Либи́до у животных сохранялось. От баранов можно было получить сперму, а собаки проявляли сексуальную активность.

Кривая массы тела иммунизированных животных была такой же, как у контрольных животных той же колонии; видимо, иммунизация не вызывала никаких осложнений. Размеры семенников несколько уменьшились, но это не приводило к косметическим дефектам. Среди побочных явлений следует отметить набухание и болезненность семенников, продолжавшиеся 1—2 нед, особенно при введении больших доз. Однако эти явления значительно уменьшились при применении малых доз.

Пока трудно сказать, обратим ли эффект этого метода. Азооспермия продолжалась у иммунизированных животных в течение нескольких месяцев. Однако у одной собаки и двух макак резусов через несколько месяцев сперматозоиды вновь появились в семени. Возможно, что это объясняется механизмом восстановления и регенерации, присущих семенникам. Возможно, что здесь играют роль также размеры дозы;

всех случаях была интактна и околоканальцевые клетки оставались в норме. Ядра клеток Сертоли были без изменений, но их цитоплазма в части канальцев была вакуолизирована. Зародышевые клетки были обнаружены на разных стадиях развития, но канальцы почти не содержали уже сформировавшихся сперматозоидов. В некоторых канальцах были найдены гигантские клетки. Наблюдалась гиперплазия интерстициальных клеток с лейкоцитарной инфильтрацией (рис. 18).

Клетки Лейдига были, видимо, нормальными и функционировали, как можно было судить по:

1) уровню андрогенов в крови, который не был

умеренная доза БЦЖ вызывает обратимые и ограниченные повреждения. Этот вопрос нуждается в систематическом изучении. Уже ведутся опыты для того, чтобы установить, можно ли снять эффект иммунизации при помощи медикаментов, направленных против БЦЖ.

Возможности принципа аутоиммунизации в ограничении рождаемости

У стерильных от природы мужчин с высокими титрами антител сперматозоиды содержат антигены, способные вызывать антительные ответы у того же индивида. Это подтверждается также появлением антител к сперме у мужчин после таких операций, как перевязка семявыносящего протока, когда сперматозоиды могут проникать в системное кровяное русло. Источником антигенной стимуляции действительно являются сперматозоиды; это подтверждается отсутствием антител после вазэктомии у животных в стадии незрелости, когда еще не образовались сперматозоиды. Аналогичные результаты были получены после опустошения резервов сперматозоидов и блокировки сперматогенеза у взрослых животных тестостероном в высоких дозах.

Каковы препятствия для применения этого метода ограничения рождаемости в широких масштабах? Очевидно, поскольку метод может быть использован на животных нескольких видов, от грызунов до приматов, нетрудно будет провести детальное исследование его безопасности. Кроме того, надо заметить, что фактически у миллионов мужчин происходит аутоиммунизация антигенами спермы без их ведома, когда они решаются на вазэктомию. Эти лица являются ценным источником получения материала для исследований, и необходимо внимательно наблюдать их в течение длительного времени. Исследования материала, полученного от этих лиц, могут помочь ответить на ряд важнейших вопросов. Например:

1. Каковы антигены, против которых направлены антитела, где они находятся на сперматозоидах, какова их химическая природа (для тестов можно использовать большое количество очищенных ферментов и других компонентов)?

2. Вступают ли эти антитела в перекрестную реакцию с другими тканями, в частности с головным мозгом, корой надпочечника, щитовидной железой и яичниками? В каких структурах внутри семенников происходит реакция?

3. К какому типу принадлежат антитела, которые обычно индуцируются этим материалом — иммобилизирующему, цитотоксическому или агглютинирующему?

4. К каким классам и подклассам иммуноглобулинов относятся антитела, специфичные к антигенам сперматозоидов?

5. Можно ли обнаружить антитела в секретах семенни-

ков? Каковы титры антител в сыворотке и класс их у лиц, у которых они будут обнаружены в секретах репродуктивного тракта?

6. Какова средняя продолжительность антительного ответа?

7. Наличие клеточного иммунитета и роль его в индукции асперматогенеза.

Обобщенные результаты таких исследований должны внести огромный вклад в исследования в этой области, а также ясно показать, безопасна ли избирательная аутоиммунизация против антигенов спермы и заслуживает ли она дальнейшей разработки в качестве метода ограничения фертильности мужчин.

ИММУНИЗАЦИЯ ЖЕНСКИХ ОСОБЕЙ МУЖСКИМИ АНТИГЕНАМИ

Первичная и вторичная иммунизация через генитальный тракт

Сперматозоиды несут не только ауто-, но и изоантигены. Однако введение их в репродуктивные пути женских особей обычно не вызывает иммунного ответа типа «отторжения». Это объясняют слабой антигенностью спермы при таком способе введения и наличием в половых путях ферментов, разрушающих антигены [Katsh et al., 1968]. Возможно, действуют и другие механизмы, удаляющие антигенный материал таким образом, что процесс отторжения не может быть вызван. Вероятно также, этот путь обычно вызывает иммунный ответ «облегчающего», а не «отторгающего» типа. Тем не менее коитус может вызвать эффективную поддерживающую реакцию у лиц, ранее сенсибилизированных к антигенам спермы (см. главу 2).

Из этих наблюдений можно сделать два вывода:

1. Необходимо разработать простой безопасный метод для эффективной первичной иммунизации против антигенов спермы в женских половых путях.

2. Необходимо помнить о существовании автоматического процесса поддержания иммунного ответа посредством повторного коитуса. Этот феномен, хотя он и выгоден для индукции иммунитета, имеет свои отрицательные стороны, а именно блокада, если она создана, становится почти необратимой.

Сравнение местного и системного иммунитета

Ясно, что для того, чтобы сперматозоиды не могли оплодотворить яйцеклетку, необходим местный иммунитет в генитальных путях. Циркулирующие антитела проникают в генитальные секреты, однако хорошо известно, что поверхность слизистой оболочки имеет иммунный потенциал. Иммунокон-

петентные клетки в lamina propria можно включить так, чтобы они синтезировали местно антитела секреторного IgA-типа независимо от системного антительного ответа. У женщин, которым во влагалище для иммунизации вводят вакцину *Candida albicans*, секреты шейки матки содержат антитела типа IgA [Waldman et al., 1972]. У женщин, иммунизированных инактивированной вакциной против полиомиелита, наблюдается антительный ответ именно типа IgA, если иммунизация интравагинальная [Ogra P., Ogra S., 1973]. Возможно, что клеточный иммунитет также может иметь местное представительство [Cinader, de Weck, 1976]. Пути и способы, направленные на то, чтобы вызывать функциональный местный иммунный ответ, пока еще не стандартизированы. Необходимо местное введение антигена; кроме того, характер и степень ответа должны зависеть от формы антигена, его природы, используемого количества и адъювантов. В женских половых путях различные отделы обладают разной способностью к иммунному ответу; возможно, что шейка матки окажется довольно удобным местом для индукции местного антительного ответа.

Предпочитаемые антигены

Для изоиммунизации могут быть использованы цельные сперматозоиды, однако в течение многих лет усилия исследователей были направлены на то, чтобы обнаружить и использовать высокоочищенные белки, которые должны быть: 1) высокоспецифичными для спермы без перекрестных реакций с другими органами; 2) важными для оплодотворяющей способности сперматозоидов. Некоторые из этих антигенов обсуждаются ниже.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ-х)

ЛДГ — это белок, содержащийся только в сперме. Оригинальные исследования Goldberg (1974) доказали, что он присутствует в семенниках и сперме и отсутствует в других тканях. Она появляется в первичных сперматозоидах непосредственно перед их первым мейотическим делением.

ЛДГ представляет собой гомотетрамер, состоящий из 4 субъединиц белка С у мышей, а возможно, и у других видов животных, но не у морских свинок. ЛДГ в периферических мышцах, сердце и других тканях — это тетрамеры, образуемые переменным количеством полипептидных единиц В (обычно обозначаемых Н) и А (М). В этих ЛДГ единица С отсутствует. Таким образом, ЛДГ-х химически и иммунохимически отличается от ЛДГ других тканей.

Goldberg (1971, 1972) очистил и получил в кристаллическом виде этот фермент из мышечных семенников (рис. 20);

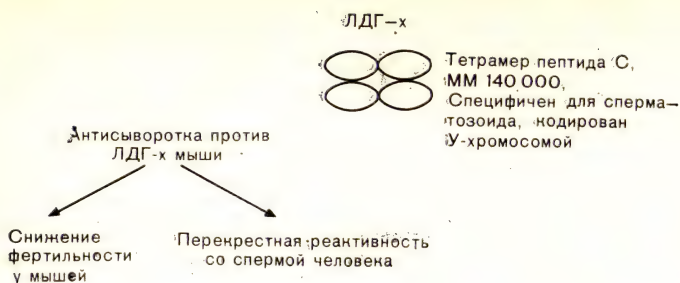


Рис. 20. Химические, биологические и иммунологические свойства мышинной ЛДГ-х.

из 200 г ткани семенников было выделено около 60 мг. ЛДГ была выделена также из семенников крыс [Schatz, Segal, 1969], быков [Kolb et al., 1970] и человека [Goldberg, 1974]. Ее ферментные и физико-химические характеристики достаточно полно изучены. Мышинная ЛДГ-х имеет молекулярную массу 140 000 и более активна при температуре 32 °С. Сейчас изучается ее первичная структура.

Этот фермент находится в цитоплазме, в средней части сперматозоида. Он просачивается наружу и его можно обнаружить связанным неспецифически с хвостовой частью сперматозоида. Небольшое количество его можно найти также на поверхности сперматозоидов мышей, на плазматической мембране, покрывающей постакросомальную пластину [Erickson, 1978].

При инъекции очищенного фермента из мышинных семенников с ПАФ он вызывает у кроликов интенсивный антительный ответ, причем титры достигают пика примерно на 5—7-й неделе. Примерно к 20-й неделе титры антител снижаются, но в это время поддерживающая инъекция быстро вызывает вторичный ответ. Ферменты нескольких видов млекопитающих, например человека, хомяка, кролика и крысы, гомологичны в иммунохимическом отношении и нейтрализуются антисывороткой к мышинной ЛДГ-х, ЛДГ выступает как ауто-, так и изоантигеном.

Активная иммунизация ЛДГ-х снижает плодовитость кроликов [Goldberg, 1974]. Число оплодотворенных яйцеклеток уменьшается примерно на 50 %, судя по отношению blastocистов, выделенных у контрольных и иммунизированных животных, к числу желтых тел, образовавшихся у каждой крольчихи (70—75 % у контрольных, 40—44 % у иммунизированных крольчих). Кроме того, после иммунизации у крольчих наблюдалась смертность эмбрионов. Механизм эмбриотоксического действия пока не ясен. Вещества, взаимодействующие с антисыворотками против ЛДГ-х, можно обнаружить на по-

верхности бластоцист; возможно, что они представляют собой содержащиеся в сперме ферменты, переместившиеся на поверхность, так как в неоплодотворенных яйцеклетках их нет. Эмбриональные экстракты, видимо, не содержат ЛДГ-х. Таким образом, возможно, что активная иммунизация ЛДГ-х дает эффект на двух этапах: 1) уменьшение количества оплодотворенных яйцеклеток; 2) смертность эмбрионов после оплодотворения. Goldberg отметил, что погибают эмбрионы до имплантации; после нее антитела на них уже не действуют и потомство развивается нормально. Однако необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы окончательно исключить повреждение эмбриона и тератологическое действие после имплантации.

Erickson с соавт. (1975) иммунизировали самок мышей мышьиной ЛДГ-х с адьювантом. У 70 % иммунизированных животных образовались антитела, но в большинстве случаев в низком титре. У животных с титром 1 : 16 уменьшилось число мышат, рожденных за весь период наблюдения, равный 71 дню (26 мышат по сравнению с 41 в контрольной группе). Видимо, этот эффект обусловлен прежде всего гуморальным, а не клеточным иммунитетом.

ЛДГ обладает рядом свойств, которые необходимы для разработки вакцины на основе антигенов спермы. Это органо- и клеточно-специфический компонент. Он обладает изо- и аутоантигенными свойствами. Следует подчеркнуть, что иммунологически ЛДГ от разных видов животных гомологичны. Системная иммунизация ведет к снижению плодовитости. Недостатком метода на настоящем этапе является его неполная эффективность в прекращении рождаемости после иммунизации этим антигеном даже с применением ПАФ. Мы не знаем, насколько этот антиген эффективен без ПАФ, т. е. адьюванта, недопустимого для применения у человека. Возможно, в ближайшие годы будут разработаны другие схемы иммунизации, которые смогут дать достаточно высокие титры антител при применении допустимых адьювантов. Низкие титры антител не могут заблокировать процесс оплодотворения. Необходимо также окончательно исключить возможное тератологическое действие анти-ЛДГ-х-иммунизации на потомство.

Гиалуронидаза

Гиалуронидаза — акросомальный фермент, способный деполимеризировать гиалуроновую кислоту и рассеивать клетки яйценосного бугорка (*stimulus oophorus*). Предполагается, что этот фермент играет важную роль в проникновении сперматозоида в яйцеклетку. Он специфичен для вида; гетероантитела, полученные против кроличьих сперматозоидов, подавляют кроличью гиалуронидазу, но не гиалуронидазу спер-

мы быков, морских свинок, мышей [Metz, 1972, 1973]. Таким образом, возможность использования фермента других видов для активной иммунизации ограничена. По-видимому, гиалуронидаза органоспецифична; кроличьи антитела к человеческой сперме подавляли гиалуронидазу спермы, но не сыворотки. Гиалуронидаза является ауто- и изоантигенной. Однако для окончательного решения этого вопроса необходимо применять более тщательно очищенный фермент. Активная и пассивная иммунизация против этого антигена уменьшает плодовитость у кроликов и других видов животных [Metz, 1973].

Акрозин

Акрозин — это также акросомальный фермент, обладающий протеолитическими свойствами и играющий важную физиологическую роль при оплодотворении [Stambaugh, Buckley, 1969; Williams, 1972]. Этот фермент по своим каталитическим свойствам и характеристикам сходен с панкреатическим трипсином. Однако показаны иммунологическая специфичность акросомальной протеиназы и отличия ее от панкреатического трипсина [Zanevald et al., 1973]. Этот антиген также перспективен в отношении иммунологического контроля рождаемости.

Сорбитолдегидрогеназа

Сорбитолдегидрогеназа содержится в семенниках позвоночных животных. Она находится в митохондриях и цитоплазме зародышевых клеток. Очищенный фермент семенников морской свинки оказывает сильное антигенное действие и вызывает аутоиммунный асперматогенез у кроликов [Bishop, 1967].

Другие ферменты

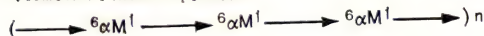
Акросома содержит ряд других ферментов. Однако они недостаточно изучены в биохимическом и иммунологическом отношении. По данным литературы, фермент, рассеивающий клетки лучистого венца, подавляется двухвалентными и одновалентными гетероантителами [Menge, 1971]. Показано, что нейраминидаза спермы также участвует в оплодотворении [Srivastava et al., 1970]. Необходимы дальнейшие исследования ее специфичности, иммуногенности и эффективности в качестве антифертильного антигена.

Последовательность углеводов на мембране гликопротеинов

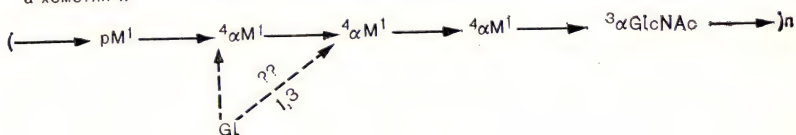
Sarkar (1974) предложил новый метод иммунизации против антигенов спермы. Его метод основан на использовании дискретной последовательности углеводов, полученных из кле-

точных стенок бактерий. Он использовал перекрестную реактивность между углеводной частью гликопротеинов и гликолипидов, образующих материал клеточной стенки у микроорганизмов и в клетках животных. Эта перекрестная реакция иногда вызывает повреждения тканей при некоторых микробных инфекциях. Была обнаружена перекрестная реакция между углеводными антигенами мембран человеческой спермы и полисахаридами клеточной стенки сальмонелл, *Escherichia coli* и дрожжей. Были выделены два типа маннанных антигенов.

Хемотип I имел структуру:



а хемотип II



Хемотип I был выделен из мутантного штамма *Saccharomyces cerevisiae* маннап. Дрожжевой маннан — это огромная молекула гликопротеина, содержащая 95 % углевода и 5 % белка. 20 единиц углеводных остатков хемотипа I, каждая с молекулярной массой 25 000, соединены пептидными связями.

Хемотип II встречается в липополисахаридной (ЛПС) фракции ряда грамотрицательных бактерий.

Эти вещества можно выделить в достаточно больших количествах из соответствующих организмов. Выход маннанов хемотипа I составляет примерно 4 % от массы дрожжей, а липополисахаридов — около 2 % от массы бактерий.

Маннаны антигенны для человеческого организма. Маннаны клеточной стенки *Candida albicans* вызывают гуморальный и клеточный иммунитет у особей женского пола. Хемотип I оказывает сильное иммуногенное действие у кроликов. Антигенный ответ, по-видимому, продолжительный, так как лизосомы млекопитающих не содержат фермента, способного разрушать этот углевод. Возможно, что антительный ответ продолжается до конца жизни реципиента.

Липополисахарид — это макромолекула с минимальной молекулярной массой 1 000 000. Это сильный митоген для В-клеток, вызывающий антительный ответ без Т-клеток. Таким образом, носителя не требуется. Липополисахарид обладает мощным адьювантным свойством. В прошлом его не могли использовать в широких масштабах из-за токсичности.

Однако были разработаны методы детоксикации. Schenck с соавт. (1969) предложили сукцинилирование липополисахаридов, а Chedid с соавт. (1975) получили благоприятный результат, пользуясь натриевофталиловым производным липополисахаридов. Эти виды обработки, хотя и решают проблему токсичности, вместе с тем меняют антигенную реактивность молекул. Поэтому необходима постановка новых экспериментов, чтобы убедиться в сохранении антиспермальной реактивности. Необходимо также тщательно проверить, может ли неспецифическая стимуляция В-клеток ЛПС-подобным материалом привести к вредным последствиям и аутоиммунным реакциям.

Антитела к хемотипу I, видимо, будут специфичны для спермы. Антитела к хемотипу II реагируют как со спермой, так и с бластоцистой. Таким образом, иммунизация этими антигенами, очевидно, может оказывать как антиспермальное, так и антибластоцистное действие. Однако пока еще не доказана их активность *in vivo*. Дальнейшие исследования покажут, могут ли эти антигены быть использованы как антифертильные антигены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунизация женских особей антигенами сперматозоидов имеет свои преимущества и недостатки. Антигены, специфичные для спермы, должны быть «чужеродными» для женщин и иммуногенными. По всей вероятности, они должны быть лишены перекрестной реактивности с другими тканями женского организма. Половые сношения должны обеспечивать естественный механизм, поддерживающий предыдущую сенсibilизацию.

Основные недостатки этого принципа связаны с огромными трудностями обеспечения полной нейтрализации гаметмишеней, вытекающими из биологии самой системы. Сперматозоиды поступают в половые пути в огромных количествах, от 20 до 200 млн/мл в эякуляте, а для оплодотворения яйцеклетки достаточно одного из них. Таким образом, отмечается избыток сперматозоидов. Кроме того, они находятся в движении в различных участках женских половых путей; их жизнеспособность неодинакова во всех органах, так же как и способность этих органов оказывать иммунное действие. Системный иммунитет не эффективен, если отсутствует местный иммунитет в генитальном тракте. Таким образом, понятно, что целенаправленная иммунизация женских особей сперматозоидами или антигенами спермы всегда приводила лишь к снижению фертильности, а не к полной ее блокаде. Пока не будут созданы более эффективные адъюванты и способы, вызывающие местный иммунитет, изоиммунизацию против антигенов сперматозоидов в лучшем случае можно рассмат-

ривать как наиболее широко применяемый метод, снижающий общую рождаемость в какой-либо популяции, а не как надежное средство планирования численности отдельных семей.

Теперь, когда установлено, что антифертильные антигены содержатся в сперматозоидах, можно отказаться от прежних подходов использования для иммунизации цельного материала семенников и спермы.

Эпидидимальные сперматозоиды или сперматозоиды эякулята, отмытые от секреторных компонентов семенной плазмы, иммуногенны для женских особей. Однако основное внимание исследователей было обращено на приготовление чистых антигенов спермы, и действительно, за последние годы выделен и идентифицирован ряд компонентов, представляющих потенциальный интерес; многие из них являются акросомальными ферментами, выполняющими важные функции при проникновении сперматозоидов в яйцеклетку. Антитела, нейтрализующие каталитическую активность этих ферментов, должны блокировать взаимодействие между сперматозоидом и яйцеклеткой. Некоторые из них, например гиалуронидаза и акрозин, лучше изучены, чем другие. Вполне возможно, что один или более из этих ферментов могут послужить ценными антигенами для ограничения рождаемости.

Особый интерес представляют два цитоплазматических антигена тела сперматозоида. Лактатдегидрогеназа, гомотетрамер С-полипептида — это белок, присутствующий только в сперме. Он получен в кристаллическом виде. Его свойства и характеристика известны. Первичная структура белка, т. е. последовательность аминокислот в его полипептидной цепи, сейчас изучается, и недалеко то время, когда будут картированы его активные центры. Иммунизация этим белком уменьшает количество оплодотворенных яйцеклеток и выживающих бластоцист. Видимо, работа с этим антигеном спермы наиболее успешно продвигается. Пока еще остается решить ряд вопросов, однако можно надеяться, что ЛДГ явится одним из наиболее приемлемых антигенов спермы для иммунизации.

Другим оригинальным принципом является применение маннанов микробного происхождения в качестве антигенов. Они перекрестно реагируют с углеводными группами гликопротеинов мембраны сперматозоидов. Антитела к одной из последовательностей углеводов также реагируют с бластоцистой. Таким образом, можно вызвать двойную блокаду — оплодотворения и имплантации. Некоторые вопросы, связанные с безопасностью и эффективностью такой иммунизации, еще не решены, но этот принцип представляется интересным. В отличие от обычного кратковременного антительного ответа на другие антигены спермы, ответ на углеводные группы должен быть продолжительным. Существует опасность, что он окажется необратимым. Возможно также, что разница между

иммунной дозой и дозой, вызывающей толерантность, может быть незначительной.

Может быть, что вслед за современной «аналитической» фазой выявления и выделения антигенов спермы наступит фаза интегрирования, когда окажется, что более целесообразно пользоваться поливалентной смесью перспективных антигенов вместо одного антигена с целью почти полного контроля над рождаемостью.

Серьезным недостатком изоиммунизации женских особей антигенами спермы является то, что на практике трудно обеспечить полную блокаду фертильности. Надежным способом контролирования фертильности у мужских особей была бы полная остановка сперматогенеза желательно при помощи иммунологических методов. Теоретически и практически это возможно, если использовать особенность развития семенников. Их основные структурные элементы образуются в эмбриональном периоде жизни, но процесс сперматогенеза начинается только в период полового созревания. Иммунная система толерантна к структурным элементам семенников, но не к новым белкам, появляющимся по мере развития зародышевых клеток. Таким образом, иммунная система имеет способность избирательно реагировать на поздно появляющиеся спермальные белки. У экспериментальных животных и у больных раком иммунизация экстрактами семенников и спермы в комплексе с ПАФ вызывала аутоиммунный асперматогенный орхит. Очевидно, в его развитии играли роль как гуморальные, так и клеточные иммунные реакции. Недавние исследования показали, что асперматогенез может быть вызван введением БЦЖ в семенники. Одной инъекции достаточно, чтобы через 4—6 нед сперма практически не содержала подвижных живых сперматозоидов. Блокада не снижает либидо и уровня андрогенов в крови. Этот метод пригоден для всех видов животных, у которых образование сперматозоидов происходит в постэмбриональном периоде, а основной препарат формируется в период внутриутробного развития. Он может быть непосредственно использован для ограничения плодовитости домашних и сельскохозяйственных животных, о чем говорится в следующей главе. Широкое применение этого метода в ветеринарной практике должно дать важные сведения относительно его безопасности. Этот метод эффективен почти в 100 % случаев в отличие от большой variability результатов изоиммунизации. В принципе эффект его может быть обратимым; для этого, очевидно, нужны более умеренные дозы и введение в соответствующие сроки антимикобактериальных агентов (антибиотиков, изониазида).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Austin C. R. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1960, v. 1, p. 151.
- Behrman S. J. — In: *Progress in Infertility*, p. 675. Edited by S. J. Behrman and R. W. Kistner. Little Brown and Co., Boston, 1968.
- Bishop D. W. — *Federation Proceedings*, 1967, v. 26, p. 646.
- Brown P. C., Glynn L. E., Holborow E. J. — *Immunology*, 1967, v. 13, p. 307.
- Chedid L., Audibert F., Bona C. et al. — *Infection and Immunity*, 1975, v. 12, p. 714.
- Cinader B., de Weck A. (Eds). — *Immunological Response of the Female Reproductive Tract*. Scriptor. Copenhagen, 1976.
- Cohen J., Werrett D. J. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1975, v. 42, p. 301.
- Erickson R. P. — In: *Immunology of Reproduction*, p. 464. Bulgarian Academy of Sciences. Sofia, 1978.
- Erickson R. P., Stites D. P., Spielmann H. — *Contraception*, 1975, v. 12, p. 333.
- Freund J. — *Journal of Allergy*, 1957, v. 28, p. 18.
- Freund J., Lipton M. M., Thompson G. E. — *Journal of Experimental Medicine*, 1953, v. 97, p. 711.
- Freund J., Thompson G. E., Lipton M. M. — *Journal of Experimental Medicine*, 1955, p. 101, p. 591.
- Friberg J., Kjessler B. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1975, v. 131, p. 987.
- Goldberg E. — *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 1971, v. 68, p. 349.
- Goldberg E. — *Journal of Biological Chemistry*, 1972, v. 247, p. 2044.
- Goldberg E. — In: *Seventh Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control*, p. 202. Edited by E. Diczfalusy. Karolinska Institutet. Stockholm, 1974.
- Katsh S. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1959, v. 77, p. 946.
- Katsh S. — *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, 1960, v. 16, p. 241.
- Katsh S., Aguirre A., Katsh G. F. — *Fertility and Sterility*, 1968, v. 19, p. 740.
- Katsh S. — *International Archives of Allergy*, 1964, v. 24, p. 319.
- Katsh S., Aguirre A. R., Leaver F. W., Katsh G. F. — *Fertility and Sterility*, 1972, v. 23, p. 644.
- Kolb E., Fleishsr G. A., Lerner J. — *Biochemistry*, 1970, v. 9, p. 4372.
- Kummerfeld H. L., Richard M. S., Hintz L., Foote R. H. — *Fertility and Sterility*, 1976, v. 27, p. 293.
- Lamoureux G. (Ed.). *BCG in Cancer Immunotherapy*. Grune and Stratton. New York, 1976.
- Landsteiner K. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1899, Bd 25, S. 546.
- Mende A. C. — *Journal of Reproduction and Fertility (Supplement)*, 1970, v. 10, p. 171.
- Menge A. C. — *Biology of Reproduction*, 1971, v. 4, p. 137.
- Metalnikoff S. — *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)*, 1900, v. 14, p. 577.
- Metchinikoff E. — *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)*, 1899, v. 13, p. 737.
- Metz C. B. — *Biology of Reproduction*, 1972, v. 6, p. 358.
- Metz C. B. — *Federation Proceedings*, 1973, v. 32, p. 2057.
- Ogra P. L., Ogra S. S. — *Journal of Immunology*, 1973, v. 110, p. 1307.
- Rao S. S., Sheth A. R., Sadri K. K. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1961, v. 2, p. 204.
- Rümke Ph., Titus M. — *Journal of Reproduction and Fertility*, 1970, v. 21, p. 69.
- Sarkar S. — *Journal of Reproductive Medicine*, 1974, v. 13, p. 93.
- Schatz L., Segal H. L. — *Journal of Biological Chemistry*, 1969, v. 244, p. 4393.

- Schenck J. R., Hargie M. P., Brown M. S. et al.* — Journal of Immunology, 1969, v. 102, p. 1411.
- Srivastava P. N., Zaneveld J. D., Williams W.* — Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications, 1970, v. 39, p. 575.
- Stambaugh R., Buckley J.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1969, v. 19, p. 423.
- Talwar G. P., Naz R. K., Das C., Das R. P.* — Proceedings of the National Academy of Sciences(USA), 1979, v. 76, p. 5882.
- Tyler A.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1961, v. 2, p. 473.
- Voisin G. A., Toullet Francine.* — In: Proceeding of the First Symposium on Immunology and Reproduction. Geneva, 1968, p. 93—95. International Planned Parenthood Federation 19, London, 1969.
- Voisin G. A., Toullet Francine, D'Almeida M.* 7th Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control, p. 173. Edited by E. Diczfalusy. Karolinska Institutet. Stockholm, 1974.
- Wladman R. H., Cruz J. M., Rowe D. S.* — Journal of Immunology 109, 662; Clinical and Experimental Immunology, 1972, v. 10, p. 427.
- Williams W. L.* — In: Biology of Mammalian Fertilization and Implantation, p. 19. Edited by K. S. Moghissi and E. S. E. Hafez. Charles C. Tomas, Springfield, Illinois, 1972.
- Zaneveld L. J. D., Schumacher G. P. B., Travis J.* — Fertility and Sterility, 1973, v. 24, p. 479.

ГЛАВА 10

ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ ЖЕНСКИХ И ЭМБРИОНАЛЬНЫХ АНТИГЕНОВ

ПРЕИМУЩЕСТВА ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ЖЕНСКИХ АНТИГЕНОВ

По некоторым соображениям, иммунизация против женских и эмбриональных антигенов могла бы стать методом выбора. Женщины обычно более серьезно относятся к планированию численности семьи. В биологическом отношении женский организм имеет ряд преимуществ. Овуляция у женщин происходит только раз в месяц, тогда как у мужчин сперматогенез продолжается непрерывно. Оплодотворяется только одна яйцеклетка, тогда как в одном эякуляте находятся миллионы сперматозоидов. Жизнь яйцеклетки, в течение которой она может быть оплодотворена, ограничена примерно одними сутками. Если за это время яйцеклетка не входит в контакт с полноценной спермой, то цикл автоматически остается безрезультатным. Сперматозоиды, проникшие во влагалище, должны пройти шейку и матку, чтобы достичь фаллопиевой трубы, где происходит взаимодействие сперматозоида и яйцеклетки. Только часть активно подвижных сперматозоидов попадает сюда. Естественная помеха против их прохождения возникает в фолликулярной (прогестативной) фазе менструального цикла, когда по своей химической природе и физической конформации секрет слизистой оболочки

шейки матки предрасположен к образованию пробки. Если наступает оплодотворение, то у дробящейся яйцеклетки возникает точно сбалансированная потребность в ряде гормонов, которые: 1) регулируют подвижность развивающегося эмбриона и клеточную архитектуру и подвижность фаллопиевой трубы так, чтобы обеспечить транспорт зиготы; 2) подготавливают матку к имплантации; 3) обеспечивают возможность имплантации; 4) сохраняют беременность. Половина генетической информации эмбриона является чужеродной для материнского организма, и иммунологическая система по самой своей природе в норме должна была бы его отторгнуть, если бы не действовали специальные защитные механизмы. Во время лактации кормление ребенка грудью вызывает гормональные и нервные стимулы, блокирующие овуляцию.

Короче говоря, женская репродуктивная система предназначена природой для ограниченного, а не для безграничного воспроизведения. Число учитываемых гамет ограничено, и частота их образования и оплодотворения сравнительно низка. Таким образом, существуют преимущества разработки таких контрацептивных методов, которые влияли бы на определенные события репродуктивного цикла у женщин.

ТЕОРЕТИЧЕСКИ ВОЗМОЖНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Гипофизарные и гипоталамические гормоны

Женские яичники в принципе могут сформировать около 750 000 яйцеклеток, но в среднем у женщины за всю репродуктивную жизнь (25—35 лет) выбрасывается только 300—400 яйцеклеток. Каждый месяц растут и созревают фолликулы под влиянием гипофизарных гормонов. Координирующими факторами служат эстрогены и, возможно, другие стероидные гормоны. Для овуляции необходим прилив ЛГ в середине цикла. Сигнал высвобождения ЛГ исходит от гипоталамуса, этим сигналом служит декапептид РГ-ЛГ. Первичная структура РГ-ЛГ известна. Декапептид удалось синтезировать химическим путем, и он может быть использован для экспериментальных исследований и клинического применения.

Овуляцию можно нарушить, направив иммунную реакцию против: а) РГ-ЛГ; б) в какой-то мере против ФСГ; в) против ЛГ.

Рилизинг-гормон для лютеинизирующего гормона (РГ-ЛГ)

У кроликов удалось достигнуть активной иммунизации против РГ-ЛГ инъекцией декаптида, абсорбированного на поли-

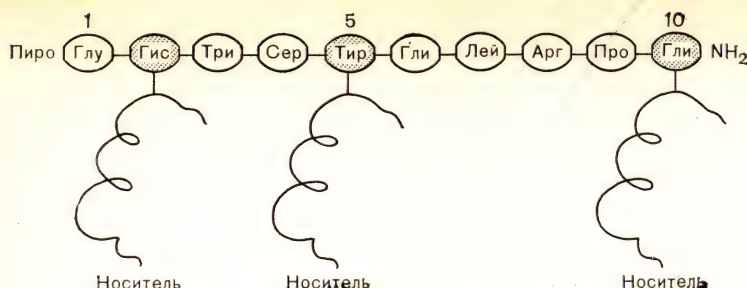


Рис. 21. Первичная структура лутенизирующего рилизинг-гормона (РГ-ЛГ). Пептид сам по себе не иммуногенен и должен быть конъюгирован с «чужим» белком-носителем, чтобы вызвать образование антител. Носитель может быть связан с РГ-ЛГ в трех точках (Гис, Гир, Гли), указанных на рисунке.

винилпирролидоне и эмульгированного в ПАФ [Arimura et al., 1973]. Иммунизация вызвала значительное снижение содержания ЛГ в гипофизе, а также атрофию гонад. Поскольку этот пептид, РГ-ЛГ, имеет небольшую длину, он был сцеплен с белком-носителем, с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Эффективная иммунизация против РГ-ЛГ была достигнута у макак резусов, кроликов, мышей и собак в нашей лаборатории с такими допустимыми адъювантами, как фосфат алюминия, путем применения конъюгатов РГ-ЛГ со столбнячным анатоксином соответствующего состава (рис. 21). Антителный ответ был обратим. Активная иммунизация РГ-ЛГ — БСА снижала уровень ЛГ и ФСГ без каких-либо изменений пролактина и ТСТ (тиреостимулирующего гормона) [Fraser, 1975]. Иммунизация противодействовала подъему уровня гонадотропинов у гонадэктомированных животных. Введение кроличьей сыворотки против РГ-ЛГ блокировало овуляцию у крыс и обезьян [Koch et al., 1973]. Активная иммунизация против РГ-ЛГ обратимо подавляла плодовитость у мармозеток [рис. 22; Hodges, Hearn, 1979].

Таким образом, иммунизация против гипоталамического декапептида возможна и она блокирует овуляцию. Однако отсутствие ЛГ в результате такой иммунизации лишило бы организм овариальных стероидных гормонов. Это отразилось бы на состоянии тканей и на процессах, которые чувствительны к действию стероидных гормонов и зависят от них. Однако этот метод может быть использован у животных различных видов, особенно у которых отсутствуют непрерывные циклы. Преимущество заключается в том, что количество гормона, которое приходится нейтрализовать, не слишком велико, следовательно, можно ограничиться практически достижимым умеренным количеством антител.

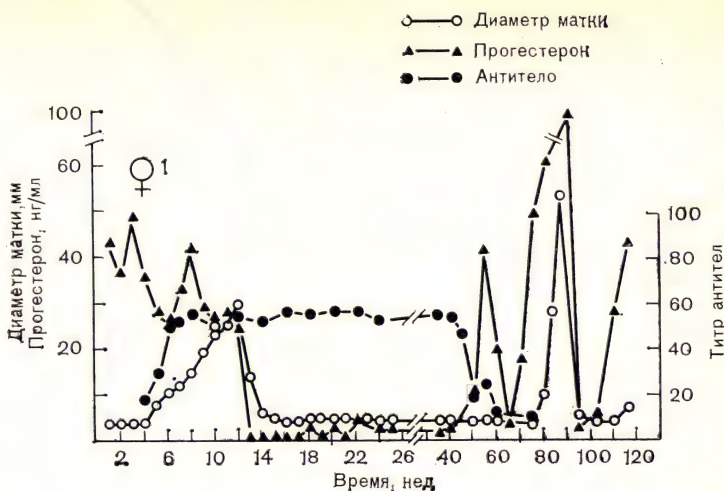


Рис. 22. Действие иммунизации против ЛГ-РГ на фертильность (плодовитость) самок игрунковых обезьян (мармозеток). При высоких титрах антител овуляция и фертильность блокированы, но обе восстанавливались при снижении титра антител [по данным Hodges, Hearn, 1979].

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)

Schwartz (1974) подробно рассмотрел роль ФСГ и ЛГ и влияние иммунизации против них на рост фолликулов и овуляцию. По-видимому, первоначальный рост фолликула вплоть до определенной стадии не зависит от стимуляции гонадотропинами. Выяснилось, что активная иммунизация против ФСГ снижает плодовитость у крыс и кроликов [Talaat, Laurence, 1969]. Иммунизация взрослых крольчих не вызывала существенных изменений массы тела и общей морфологии яичников [Monastirsky et al., 1974]. Яичники содержали многочисленные примордиальные фолликулы. В растущих фолликулах имелось только два слоя клеток в отличие от 4—8 слоев, окружающих ооцит у неиммунизированных контрольных животных. У иммунизированных крольчих не обнаружено зрелых фолликулов. Интересно отметить, что вокруг яйцеклеток в растущих фолликулах у иммунизированных крольчих блестящая оболочка отсутствовала. Роль ФСГ в сперматогенезе дебатировалась в связи с наблюдениями, сделанными на грызунах. Однако последние данные указывают на то, что, вероятно, ФСГ участвует в регуляции сперматогенеза у приматов [Murthy et al., 1979].

Лютеинизирующий гормон (ЛГ)

Основная роль ЛГ в индукции овуляции и в стероидогенезе была убедительно доказана. Иммунизация гетерологичным

ЛГ вызывает у самцов нарушение сперматогенеза, а у самок — остановку овуляции и снижение функции гонад [Quardi et al., 1966; Wakabayashi, Тапоaki, 1966; Rao et al., 1974]. Гормон (или перекрестно реагирующие с ним гонадотропины) необходим также для поддержания функции желтого тела на ранних стадиях беременности; антисыворотка против гормона прерывает беременность (табл. 5) [Bourdel

Таблица 5. Плодовитость обезьян, иммунизированных β -субъединицей овечьего ЛГ (β =ОЛГ)

№ обезьяны	Титр антител	Спаривание	
		овуляции	беременности
74	13,6*	2	0
373	11,2	3	0
558	5,0	2	1
570	53,8	—	—
35	25,4	2	0
36	40,4	4	0
158	47,0	1	0
163	64,8	5	0
175	25,2	—	—
404	5,2	—	—
471	63,4	3	0
487	5,8	3	0
490	49,6	3	0
Всего иммунизировано 13 животных		28 (10 животных)	1
Всего контрольных 10 животных		10 (10 животных)	5

* Средний титр (% связывания ^{125}I -ХГЧ 2 мкл сыворотки) в течение января—марта [Sundaram et al., 1976].

Li, 1963; Madhwaraj, Mougдал, 1970; Prahalada et al., 1975]. Таким образом, этот гормон является хорошей молекулой-мишенью для противозачаточных антител. У некоторых животных (коз) иммунизация изовидовым ЛГ (в данном случае овечьим ЛГ) вместе с ПАФ может привести к аутоиммунизации с атрофией гонад [Hayashida, Farooq, 1969].

Основной недостаток активной иммунизации против ЛГ — резкое влияние на овариальную функцию. При отсутствии половых стероидных гормонов могут возникнуть дополнительные противопоказания. Активная иммунизация с помощью этого гормона невозможна из-за перекрестных реакций, которые возникают с другими гормонами, содержащими идентичную субъединицу — β , а именно ФСГ и ТСГ. Иммунизация β -ОЛГ блокирует плодовитость у обезьян. Антитела выполняют двойную роль: снижают образование прогестерона клетками желтого тела и нейтрализуют ХГЧ [Thau et al., 1979]. В этом случае возникает риск перекрестной реакции

с гипотизарными гормонами, которая продолжалась бы постоянно.

Циркулирующие антитела могут образовать иммунные комплексы с гормоном, выделяемым гипофизом. Эти комплексы могут привести к поражению почек. Кроме того, отсутствие контроля стероидами по принципу отрицательной обратной связи над гипотизарно-гипоталамной системой привело бы к усиленному образованию и секреции гонадотропинов, что еще более усилило бы проблему, связанную с наличием иммунных комплексов. Постоянный запрос в гормоне гипофиза может также привести к нежелательным изменениям этого органа. Таким образом, активная иммунизация против нормального физиологического гормона связана с серьезной опасностью.

Гонадные стероиды

Половые стероиды оказывают важное влияние на функции репродуктивных органов. Эстрогены являются сильными стимуляторами роста ткани матки, влагалища и других отделов половых путей. Слизистые выделения шейки матки под контролем эстрогенов обеспечивают проникновение спермы через шейку. Кроме того, прогестерон изменяет характер этих выделений. Он вызывает также типичные изменения в матке, подготавливая ее, таким образом, к восприятию бластоцисты. Оба гормона участвуют в имплантации. Для поддержания беременности необходимо физиологическое равновесие между прогестероном и эстрогенами.

Половые стероиды действуют не только на органы репродуктивной системы, но и на другие органы.

В различных участках головного мозга обнаружены рецепторы эстрогенов и других стероидных гормонов [Stumpf, Sar, 1976]. Шишковидная железа также активно концентрирует в себе эстрогены. Они являются сильными стимуляторами синтеза белков и ферментов в нервной ткани [Cardinali et al., 1976] и, вероятно, оказывают важное влияние на поведение особей и половую мотивацию. Эстрогены могут служить сигналом для секреции (прилива) ЛГ. Прогестерон участвует в контроле системы гипофиз — гипоталамус по принципу отрицательной обратной связи, вследствие чего регулируется секреция гонадотропинов. Эти гормоны действуют также на кожу, печень, молочные железы и т. д.

Таким образом становится очевидным, что иммунизация против гонадных гормонов может привести к нарушению нормальных репродуктивных процессов. Однако действие их может распространиться за пределы выбранной мишени. В принципе могут быть поражены все ткани, все органы, чувствительные к этим гормонам. Избирательность и способность к различению отсутствуют, следовательно, активная иммуниза-

ция этими гормонами не может служить логическим следствием ограничения плодовитости. Тем не менее использование моноспецифических сывороток в тщательно продуманных экспериментальных системах может значительно способствовать выяснению места приложения действия и механизма действия этих гормонов. Например, введение крысам антител к конъюгатам эстрадиола-17 β с бычьим сывороточным альбумином (БСА) предотвращает секрецию ЛГ и блокирует овуляцию, что доказывает участие эстрадиола в запуске секреции ЛГ [Ferrin et al., 1968]. Пассивное введение беременным крысам антисывороток к прогестерону прерывало беременность, что указывает на решающую роль прогестерона в поддержании беременности [Csapo et al., 1975]. Активная иммунизация крыс эстрадиолом или прогестероном нарушала соответственно эстральный цикл и блокировала плодовитость. Можно упомянуть также интересные исследования Nieschlag с соавт. (1975) по активной и пассивной иммунизации животных против андрогенов.

Иммунизация не всегда ведет к нейтрализации активности гормона, напротив, она может усилить действие гормона вследствие сохранения стероида в форме связи с иммуноглобулинами. Связь такова, что стероид не маскируется и может оказывать биологическое действие.

Овариальные антигены

Проводились опыты с иммунизацией цельной тканью яичников, а также с фолликулярной жидкостью.

Фолликулярная жидкость

На основании предварительного сообщения предполагалось, что фолликулярная жидкость содержит специфические секреты гранулезных клеток и, таким образом, может служить источником специфических антигенов. Однако это предположение не подтвердилось. Иммунодиффузия и иммуноэлектрофорез человеческой фолликулярной жидкости показали, что компоненты фолликулярной жидкости полностью идентичны с сывороткой, хотя их концентрация в фолликулярной жидкости более низкая [Manarang-Pangan, Menge, 1971]. Эти данные соответствуют наблюдениям Shivers с соавт. (1964), изучавших фолликулярную жидкость свиней, и Desjardins с соавт. (1966), работавших с фолликулярной жидкостью коров.

Антигены яйценосного холмика и лучистого венца

Можно вызвать образование антител к антигенам, содержащимся на этих клетках, у другого вида животных. Овечья

антисыворотка против кроличьих яичников вызывает сильную реакцию флюоресценции как с клетками яйценосного холмика, так и лучистого венца. Однако тканеспецифических антигенов не было обнаружено, так как антитела, абсорбированные другими соматическими тканями, теряли способность реагировать с этими структурами [Shivers, 1976]. Кроме того, воздействие антителами не отражалось на функции, так как обработка яйцеклеток этими сыворотками не препятствовала рассеиванию клеток яйценосного холмика, гиалуронидазой сперматозоидов [Jilek, Pavlok, 1975].

Антигены блестящей оболочки

Из всех овариальных антигенов наиболее интересны антигены блестящей оболочки яйцеклетки. Она представляет собой бесклеточный желатинозный слой, окружающий яйцеклетку, и содержит много углеводов. Ее основные компоненты — это гликопротеиды и мукополисахариды. Porter с соавт. (1970) впервые отметили антигенные свойства этих компонентов. Значительный вклад в разработку этого вопроса внесли Shivers с соавт., Gwatkin, а также другие исследователи; они установили значение этих антигенов и роль антител к ним в процессах оплодотворения и имплантации.

У животных некоторых видов, например у морских свинок, хомяков, кроликов, мышей и коров, обнаружены антигены блестящей оболочки, реагирующие с антителами, полученными у кроликов или овец, иммунизированных экстрактами яичников соответствующих видов. Все виды млекопитающих имеют антигены блестящей оболочки, в иммунном отношении доминирующие среди овариальных экстрактов. Антитела, реагирующие с блестящей оболочкой, были обнаружены также у некоторых бесплодных женщин [Shivers, Dunbar, 1977]. Однако неизвестно, каким образом эти антитела образуются.

Антитела, полученные у других видов животных, указывают на наличие нескольких антигенов в блестящей оболочке. Некоторые из них вступают в перекрестную реакцию с другими тканями [Shahani et al., 1972]. Однако есть указания на то, что блестящая оболочка может содержать и тканеспецифические антигены. Антитела, полученные к другим тканям организма, например сыворотке, матке, яйцепроводу и фолликулярной жидкости, не реагируют с блестящей оболочкой [Shivers, 1976]. Кроме того, сыворотки, приготовленные против овариальных экстрактов, сохраняют антитела, реагирующие с блестящей оболочкой после абсорбции различными тканями [Sacco, Shivers, 1973]. Аналогичные данные получили и другие исследователи [Glass, Hanson, 1974; Jilek, Pavlock, 1975]. Короче говоря, сама блестящая оболочка *per se* содержит ряд антигенов. Антисыворотки против яйцеклеток или

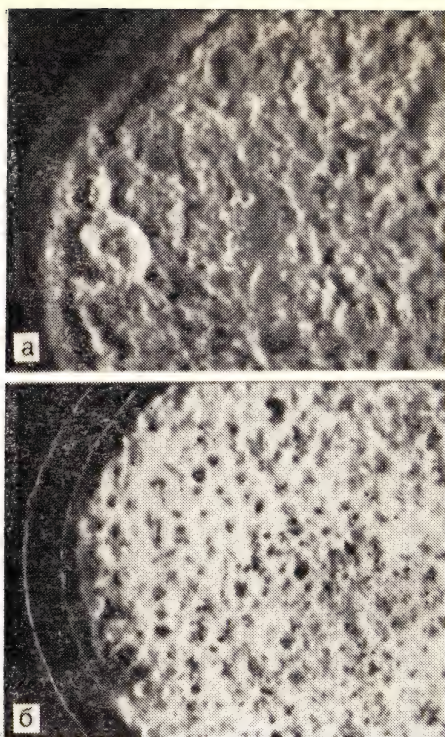


Рис. 23. Действие антител кроличьей антисыворотки против антигенов блестящей оболочки яйцеклетки козы (анти-ZP) на яйцеклетки коз. а — яйцеклетка, инкубированная (при 37 °С в течение 45 мин) с нормальной кроличьей сывороткой; б — яйцеклетка, инкубированная при тех же условиях с анти-ZP антителами. Виден преципитат на блестящей оболочке, которая становится устойчивой к действию протеолитических ферментов и непроницаемой для сперматозоидов (фото J. Sandhu).

яичников содержат антитела, перекрестно реагирующие с блестящей оболочкой яйцеклетки, а также ткань головного мозга и многими другими тканями. Только после абсорбции можно обнаружить присутствие специфических для блестящей оболочки антигенов. К настоящему времени они не выделены, хотя были разработаны методы, позволяющие получить блестящую оболочку в относительно гомогенном виде [Gwatkin, Williams, 1976]. Недавно Noda с соавт. (1980) получили, видимо, гомогенный материал. Gwatkin (1979) также приготовил гликопротеин с молекулярной массой около 68 000 дальтон. Однако Dunbar, Raynor (1980) полагают, что этот материал все еще остается гетерогенным. Были разработаны также методы для солиubilизации антигенов блестящей оболочки путем нагревания [Innoue, Wolf, 1974].

Антитела к блестящей оболочке влияют только на процессы, происходящие в ней. Антитела преципитируют антигены, содержащиеся на блестящей оболочке. Морфология ее меняется (рис. 23). Блестящая оболочка, обработанная антителами, приобретает резистентность к протеолитическим ферментам (табл. 6). Предупреждается прикрепление сперматозоидов и проникновение их в яйцеклетку; яйцеклетки,

Таблица 6. Влияние антител к блестящей оболочке на ее лизис трипсином

	Разведение	Козьи яйцеклетки с интактными блестящими оболочками. Время (мин) после инкубации в 0,5% растворе трипсина		
		10	30	45 и более
Преиммунная кроличья сыворотка (нормальная сыворотка, полученная от данного животного до иммунизации)	1:1	0/10	—	—
	1:4	0/10	—	—
	1:8	0/10	—	—
	1:16	0/10	—	—
Иммунная сыворотка кролика против блестящей оболочки яйцеклеток козы	1:1	20/20	20/20	20/20
	1:4	15/15	15/15	15/15
	1:8	15/15	15/15	15/15
	1:16	15/15	10/15	0/15

входящие в контакт с антителами после прикрепления сперматозоида, оплодотворяются. Преципитирующие антитела к антигенам блестящей оболочки не влияют на проникновение сперматозоидов в яйцеклетки, освобожденные от оболочки. Антитела к блестящей оболочке оказывают биологический эффект, так как они прерывают важнейшие процессы, происходящие на ней. Антисыворотки подавляют оплодотворение яйцеклеток как *in vivo*, так и *in vitro*.

Пассивное введение антиовариальных антител блокирует оплодотворение у хомяков не только в течение того цикла, когда вводятся антитела, но и на протяжении двух следующих эстральных циклов [Oikawa, Yanaginachi, 1975]; таким образом, можно предположить, что антитела соединились с антигенами блестящей оболочки в развивающихся яйцеклетках, которые стали непроницаемыми для сперматозоидов. Следовательно, этот эффект держится долго, но все же обратим, так как со временем появляются новые яйцеклетки. Введение антител не нарушало эстрального цикла и не влияло на овуляцию.

Значительный интерес в противодействии этим антигенам представляет возможное создание добавочного барьера на уровне сбрасывания блестящей оболочки. Обработка оплодотворенных яйцеклеток антителами допускает дробление ее, но вследствие реакции преципитации, происходящей в блестящей оболочке, этот слой остается интактным и предупреждается имплантация эмбриона [Dudkiewicz et al., 1975]. Антигены блестящей оболочки содержатся на предовуляционных созревающих яйцеклетках и сохраняются на протяжении ранних стадий эмбрионального развития, пронуклеусов, 2—4—8-и и 16-и эмбриональных клеток, морулы и бластоцисты.

Серьезным препятствием к практическому использованию антигенов блестящей оболочки в ограничении рождаемости является недостаток материала, который служил бы источником антигенов. Эта проблема была частично решена, когда было установлено, что блестящая оболочка свиней вступает в иммунную перекрестную реакцию с яйцеклетками приматов и, возможно, также человека [Shivers, 1976]. Предварительные исследования в нашей лаборатории позволяют предположить, что яйцеклетки других животных, используемых для мяса, например крупного рогатого скота и коз, также могут служить источником перекрестно реагирующего материала.

Остаются нерешенными следующие проблемы: 1) приготовление антигенов блестящей оболочки в чистом виде, по крайней мере без материала, перекрестно реагирующего с другими тканями организма; 2) разработка методов иммунизации без помощи таких недопустимых адъювантов, как ПАФ.

Эмбриональные антигены и антигены различных стадий развития (стадиоспецифические)

Блестящая оболочка, покрывающая ранний эмбрион, морулу и бластоцисту, содержит антигены овариального происхождения. Выше мы говорили об их значении для проникновения сперматозоида и имплантации. Упоминались также временные (транзиторные) антигены, возникающие на разных стадиях эмбрионального развития, сохраняющиеся в течение определенного периода и исчезающие. Некоторые из этих антигенов способны перекрестно реагировать с тератомами. В литературе описан изоантиген, общий для дробящихся мышинных эмбрионов, мышинных сперматозоидов и недифференцированной тератомы [Artzt et al., 1973]. Этот антиген отсутствует на неоплодотворенных яйцеклетках. Возможно, что такие антигены обладают перекрестно-видовой реактивностью. Сообщалось, что человеческие сперматозоиды содержат антигенные детерминанты, перекрестно реагирующие с мышинным антигеном [Buc-Caron et al., 1974].

Другой антиген, присутствующий как на тератоме, так и на сперматозоидах, рассматривается как продукт Т-локуса или тесно сцепленного гена [Artzt et al., 1974]. Вполне вероятно, что этот антиген присутствует также у эмбрионов.

Gooding, Edidin (1974) описывают по меньшей мере три детерминанты, общие для тератомы и эмбриона. Один из антигенов вызывает образование антител, перекрестно реагирующих с большинством линий опухолей и трансформированных вирусами клеток, но не реагирующих с клетками взрослого организма. Второй антиген, возможно, идентичен α -фето-протеину, он вызывает образование антител, реагирующих с гепатомой. Первый антиген образует колпачки с Н-2D и Н-2K

антигенами. Русские ученые много лет назад [Vyazov, 1962] также отметили присутствие эмбриональных антигенов на опухолях, но не в клетках взрослого организма.

Эти общие антигены, которые можно обнаружить на сперматозоидах (возможно, и на яйцеклетках, хотя об этом пока не сообщалось), на ранних эмбрионах и опухолях представляют очень большой интерес. Они пока еще не выделены в чистом виде. Эффективная иммунизация может способствовать не только ограничению рождаемости, но и борьбе с опухолями. Однако необходимо работать с ними крайне осторожно. Если будут индуцированы усиливающие или блокирующие антитела, то иммунизация может усилить опухолевый рост, а не ликвидировать опухоль. «Облегчающая» роль усиливающих антител обсуждается в главе 4.

Секреторное содержимое матки

Яйцевод и матка являются для развивающегося эмбриона благоприятной средой. Состав секреторного содержимого этих двух органов меняется в зависимости от эндокринного статуса женщины. Предполагалось, что секреторное содержимое матки не только включает субстраты для эмбриона перед имплантацией, но и может повлиять на переход эмбриона из одной стадии развития в другую [Beier, 1974]. Имеется гипотеза о том, что у крольчих и белок утероглобин или бластокинин играет важную роль в процессе превращения морул в бластоцисты [Krishnan, Daniel, 1967]. Возможно, что в матке вырабатывается и секретируется особый тип пептидазы, играющий какую-то роль в сбрасывании блестящей оболочки яйцеклетки и в процессе имплантации [Joshi, Murray, 1974].

Жидкое содержимое матки изучалось для того, чтобы: а) определить число иммунологически выявляемых белков на стадии имплантации или в пре- и постимплантационном периоде; б) установить, является ли оно специфичным для матки; в) может ли иммунизация против него вызвать прерывание беременности. В гомогенатах маток мышей на 3-й день беременности было обнаружено минимум 10—11 растворимых антигенов [Sacco, Mintz, 1975]. Большинство из них, однако, присутствовало в крови и в других органах, не участвующих в процессе размножения. Два антигена были общими только для матки и двенадцатиперстной кишки, причем возможно, что один из них не вполне идентичен, но вступает частично в перекрестную реакцию. Joshi, Murray (1974) полагают, что найденная ими пептидаза специфична для секреторного содержимого матки и отсутствует в крови. Этот фермент можно было обнаружить в жидком содержимом матки на 5-й день беременности. Другие исследователи [Kogen et al., 1968] считают, что пока еще не удалось доказать действительную специфичность для матки ни одного из ее белков. Из-за

отсутствия точной информации об органо- и стадиоспецифичности белков (за исключением фазы перед имплантацией) трудно представить возможность использования иммунологических методов против них в целях контрацепции.

Антигены трофобласта и плаценты

Плацента — это ткань, специфическая для беременности. Она образуется после зачатия и отчасти «чужеродна» для женщины. Она играет решающую роль в сохранении беременности. Таким образом, могут представлять значительный интерес при разработке иммунологических способов контрацепции факторы, направленные против образования плаценты.

Доказательства способности антиплацентарных антител прерывать беременность

В первых экспериментах [Koren et al., 1970] были приготовлены антитела у кроликов против мышинной плаценты. Антитела вводили беременным мышам, и беременность прерывалась [Koren et al., 1968]. Пассивное введение сыворотки от неиммунизированных крольчих не вызывало никаких изменений. Отторжение объяснялось антиплацентарным действием иммунной сыворотки, о чем свидетельствовали некроз, очаговые кровоизлияния и выраженная лейкоцитарная инфильтрация в плаценте. Поскольку сыворотки приготавливались против гомогенатов цельной плаценты, то возникали также изменения других органов (печени, почек) вследствие влияния антител на перекрестно реагирующие антигены. В дальнейших опытах [Koren et al., 1970] приготавливали антисыворотки против суспензии плацентарных клеток (в основном трофобластов). Очищенные иммуноглобулины эффективно прерывали беременность, причем повреждение других органов удалось значительно уменьшить. На неоплодотворенных яйцеклетках отсутствовали антигены, служившие «мишенью» для этих антисывороток. Антигены появлялись примерно на 2-й день после оплодотворения, и количество их увеличивалось по мере развития зиготы [Komietani et al., 1973]. В другом исследовании было показано, что антитела, вызывающие выкидыши, могут быть абсорбированы клетками трофобласта, но не абсорбируются лимфоцитами [Beer et al., 1972].

Эффективность антиплацентарной сыворотки как средства, вызывающего выкидыш, была доказана также в опытах на обезьянах [Behrman, Amano, 1972]. В этих экспериментах активное вещество отличалось от плацентарных гормонов обезьяньего плацентарного лактогена и обезьяньего ХГ. Однако антисыворотки против этих гормонов прерывают беременность у павианов [Stevens, 1974]. Анитисыворотка против лактогена женской плаценты прерывает беременность у

крыс и мышей. Точно так же антисыворотки против других плацентарных протеинов, например человеческого плацентарного SP_1 , прерывают беременность у яванских макаков.

Из этих наблюдений можно сделать два вывода:

1. Плацента содержит множественные антигены.
2. Антитела, направленные против ряда из них (гормоны, негормональные белки), могут быть эффективны для прерывания беременности.

Негормональные плацентарные белки

В литературе упоминалось о ряде белков плацентарного происхождения. В число их входят белки с ферментативной активностью, например устойчивая при нагревании щелочная фосфатаза (ЩФ), цистин-аминопептидаза (ЦАП), называемая также окситоциназой, и 17- β -гидроксистероидная дегидрогеназа. Эти ферменты были очищены, и некоторые их свойства удалось установить. Пока еще нет ясных доказательств того, что антитела, направленные против этих ферментов, могут предотвращать беременность.

В основном изучались три белка, два из которых (SP_1 и PP_5) были выделены Bohn с соавт., а третий был получен Behrman с соавт. Сообщается о том, что для плаценты специфичны и некоторые другие белки, например PAPP-A [Lin et al., 1974] и IPA-C [Gaugas et al., 1974]. Возможно, что некоторые из этих белков идентичны.

Плацентарная фракция Бермана

Экстракты плацент макаков резусов и беличьих обезьян были фракционированы и выделена фракция с молекулярной массой около 35 000 дальтон, содержавшая углеводы и белки [Behrman et al., 1974]. Эта фракция лишена гормональной и ферментативной активности. Антитела к этой фракции при пассивном введении беременным обезьянам сразу же вызывали выкидыш.

На основании опубликованных данных трудно сказать, состоит ли эта фракция из одного компонента или же из множества компонентов. Так или иначе она биологически эффективна. Авторы не приводят убедительных доказательств тканевой специфичности этой фракции, хотя после абсорбции клетками печени, селезенки, почками и эритроцитами крови обезьян антисыворотки сохраняли способность вызывать выкидыш.

SP_1 и PP_5

Наиболее оригинальное исследование плацентарных белков в химическом отношении осуществлено Bohn (1976). Были обнаружены два белка, специфичных для плаценты.

SP_1 (специфичный для беременности белок β_1). Специфичный для беременности белок β_1 — это гликопротеин с молекулярной массой 90 000 дальтон. Он представляет собой недиссоциированную одиночную пептидную цепь с содержанием углеводов в количестве 28—29 %. Специфичный для беременности белок β_1 синтезируется в синцитиотрофобласте и секретируется в материнскую кровь. Концентрация его постоянно увеличивается и становится высокой к концу I триместра беременности. Он содержится в довольно больших количествах в доношенной плаценте.

PP_5 (плацентарный белок-5). Плацентарный белок-5 содержится главным образом в клетках стромы. В основном он присутствует только в плаценте и либо не выявляется в крови, либо обнаруживается в следовых количествах во время беременности. Плацентарный белок-5 также является гликопротеином с молекулярной массой 50 000 дальтон.

Функции этих белков не известны. Они лишены гормональной и ферментативной активности. В отношении фертильности изучен только один из них, SP_1 ; результаты исследования будут приведены ниже. В плацентах приматов обнаружены белки, по иммунохимическим свойствам сходные с человеческими SP_1 и PP_5 .

Антитела к SP_1 , полученные у кроликов, вводились беременным яванским макакам в течение 3 дней подряд между 19-м и 55-м днем беременности. Восемь из десяти обезьян абортировали. Эти антитела не вызывали выкидышей у беременных крыс.

Яванских макак подвергали также активной иммунизации против человеческого SP_1 . Было приготовлено два вида гаптенowych производных, которые, однако, не повышали титра антител у обезьян к этому белку по сравнению с титрами, которые достигались после введения немодифицированного SP_1 . У иммунизированных обезьян фертильность значительно снизилась. Большинство самок забеременело, но между 25-м и 135-м днем беременности у них происходил выкидыш. Кстати, можно отметить, что у 3 из 14 иммунизированных обезьян наступила беременность, которая закончилась нормальными родами. У 2 из них титр антител был довольно высоким. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы уточнить антифертильные свойства этого белка.

Нужно также выяснить, допустимо ли прерывание беременности на поздних ее стадиях.

$PAPP-A$ и $IPAC$. Связанный с беременностью плазменный белок $PAPP-A$ описан Lin с соавт. (1974). Возможно также, что и $IPAC$, описанный Gaugas с соавт. (1974), идентичен PP_5 . При дальнейшем изучении этих белков следует установить их химическую природу, выяснить, не идентичны ли они другим известным белкам и необходимы ли для сохранения беременности.

Плацентарные гормоны

Трофобласты служат источником ряда гормонов, белков и стероидов. Из белковых гормонов следует назвать: 1) человеческий хориогонадотропин (ХГЧ); 2) человеческий плацентарный лактоген (ПЛЧ); 3) человеческий хориальный тиреотропин (ХТЧ); 4) человеческий хориальный адренокортикотропин. Недавно был описан еще один гормон плацентарного происхождения (УТРН), способный содействовать росту матки и синтезу ДНК [Beas et al., 1975]. По утверждению исследователей, действие этого гормона не зависит от эстрогенов, прогестерона или ХГЧ. Появились также сообщения о том, что в плаценте происходит синтез пептидов РГ-ЛГ и РГ-ТГ [Gibbons et al., 1975].

Относительно иммунологических мер контрацепции изучались главным образом два белковых гормона, а именно ПЛЧ и ХГЧ.

Человеческий плацентарный лактоген (ПЛЧ). Антисыворотки против ПЛЧ вызывают выкидыши у многих видов животных, например мышей, крыс, макак и павианов (литературные источники см. у Stevens, 1976); однако есть ряд сообщений против использования этого гормона для активной иммунизации. Гормон представляет собой неразделенную (недиссоциируемую) пептидную цепь, последовательность аминокислот на больших участках которой аналогична двум другим гормонам, гипофизарному соматотропному гормону и пролактину. Ввиду иммунной перекрестной реакции с двумя физиологическими гормонами теоретически он не пригоден для применения в качестве иммуногена.

Другой недостаток ПЛЧ в качестве молекулы-мишени — это его поздний онтогенез. На ранних фазах развития он присутствует в низких количествах, и высокие концентрации достигаются на более поздних сроках беременности. Доношенная плацента содержит довольно много этого гормона. Таким образом, иммунизация против ПЛЧ может привести к выкидышу, но вряд ли может прерывать беременность на стадии имплантации. Проведенные недавно опыты иммунизации павианов против этого гормона также были малоудачными [Stevens, 1976].

Человеческий хориогонадотропин (ХГЧ)

Человеческий хориогонадотропин является одним из самых первых продуктов секреции трофобластов. В отношении того, вырабатывается ли этот гормон эмбрионом только в предимплантационный период, мнения расходятся [Saxena et al., 1974; Catt et al., 1975]. Так или иначе его можно обнаружить в циркулирующей крови на 8—10-й день после оплодотворения, т. е. за несколько дней до ожидаемого срока менструа-

ции. Возможно также, что ХГЧ сам по себе или вместе с другими продуктами зачатия служит сигналом, предупреждающим менструацию. В качестве диагностического теста на беременность проводится определение ХГЧ в моче.

Вырабатывается ли ХГЧ нормальными тканями?

В связи с этим естественно возникает вопрос о том, остается ли ген ХГЧ совершенно репрессированным в дифференцированной здоровой зрелой ткани. Анализ сывороток от 1517 здоровых обследуемых позволил обнаружить ХГЧ только в 0,6 % случаев [Braunstein, 1979]. Очевидно, сюда входят обследуемые, которые клинически были здоровы, но, возможно, имели скрытые опухоли. Эта цифра значительно ниже, чем частота присутствия этого гормона у больных с опухолями.

Однако несколько групп исследователей [Chen et al., 1976; Yoshimoto et al., 1977] опубликовали данные, свидетельствующие о том, что ХГЧ или материал, подобный ему, содержится в моче и экстрактах тканей очевидно здоровых обследуемых. Конечно, извлеченные количества были очень малы, и для выявления гормона потребовались методы концентрирования. Сообщалось также о том, что в гипофизарных экстрактах присутствует белок, вступающий в иммунологическую реакцию с антисыворотками, приготовленными против С-терминального пептида β -ХГЧ, и, следовательно, отличающийся от человеческого лютеинизирующего гормона (ЛГЧ) [Robertson et al., 1978]. До настоящего времени еще неизвестно, каково физиологическое значение этих данных. Гормон, выработанный в этих условиях, мог быть биологически неактивным или мог присутствовать в подпороговых концентрациях и, таким образом, не вызывать свойственного ХГЧ эндокринного действия на организм.

Как можно объяснить описанное в литературе присутствие ХГЧ в очень низких концентрациях в здоровых тканях? Можно высказать две гипотезы. Согласно первой из них, ген ХГЧ не полностью репрессирован в дифференцированных зрелых тканях. Можно также предположить, что здоровые ткани вырабатывают множество других белков в очень низких концентрациях, которые можно было бы обнаружить при применении достаточно чувствительных методов и способов концентрации. Вторая, более вероятная, гипотеза заключается в том, что дифференцированная ткань содержит в небольшом количестве недифференцированные стволовые клетки, в которых проявляется эмбриональный геном и которые продолжают вырабатывать эмбриональные белки.

Появились также сообщения о содержании ХГЧ в бактериях [Cohen, Strampp, 1976; Acevedo et al., 1978]. Возможно, ХГЧ или подобные ему иммунореактивные белки широко распространены в природе. Однако следует осто-

можно подходить к интерпретации данных. Segal с соавт. (1979) указывали, что при определении ХГЧ при помощи существующего метода радиоиммуноанализа могут возникнуть артефакты.

Действие ХГЧ на яичники

Биологическая роль ХГЧ не вполне известна. Яичники являются одной из мишеней для этого гормона. Если ввести млекопитающим ХГЧ с радиоактивной меткой, то он в основном поглощается и задерживается яичниками. По мере созревания фолликулов увеличивается число рецепторов, связывающих гормон; максимальное связывание наблюдается в желтом теле [Gnaparkasam et al., 1976]. Клетки стенки фолликула (теки) и гранулезные клетки также содержат рецепторы для гормона. Рецепторы желтого тела меняются в зависимости от возраста лютеальных клеток; желтое тело на 22—23-й день значительно больше связывает гормон, чем лютеальные клетки 27-дневного возраста. Описан феномен «деградации» тканевых рецепторов при воздействии гонадотропинов [Davies et al., 1978]. Сообщалось также о том, что на 28-й день цикла в женском желтом теле нет рецепторов для ХГЧ, тогда как в более ранние сроки они имеются [Wardlaw et al., 1975]. Факторы, от которых зависит появление и исчезновение рецепторов для ХГЧ на овариальных клетках, не вполне изучены. Несомненно, они связаны с состоянием реактивности овариальных клеток на этот гормон.

ХГЧ, подобно ЛГ, способствует синтезу и выделению прогестерона овариальными клетками. Этот эффект можно наблюдать *in vivo* и *in vitro* [Channing, Kammerman, 1973; Das et al., 1976; Hanson et al., 1971].

ХГЧ стимулирует также секрецию эстрогенов у неполовозрелых грызунов. На основании этого свойства предложена биопроба для измерения прироста массы матки у животных [Levin, Tyndale, 1937]. ХГЧ индуцирует также овуляцию у предварительно иммунизированных животных. У самцов ХГЧ обладает некоторыми свойствами подобно ЛГ. Он стимулирует синтез и секрецию тестостерона клетками Лейдига [Van Damme et al., 1974]. В качестве биопробы используется также прирост массы вентральной простаты.

Интересную загадку представляет собой прекращение синтеза прогестерона во второй половине цикла, в то время когда ЛГ содержится в крови в тонирующих концентрациях. Существует ли пороговая концентрация для реакции на ЛГ? Могут ли рецепторы для ЛГ деградировать при высоких концентрациях гормона? Каким образом человеческий хориогонадотропин поддерживает лютеальную функцию? Повторное введение ХГЧ небеременным женщинам с регулярными менструальными циклами удлиняет их менструальный

цикл только на несколько дней, но не бесконечно. Иная ситуация, однако, наблюдается при беременности. Таким образом, можно предположить, что в организме беременной образуется что-то еще, поддерживающее действие ХГЧ на яичники [Talwar, 1979]. Решающая роль ХГЧ в ранний период беременности почти не вызывает сомнений, но механизмы его действия нуждаются в дальнейшем уточнении.

У женщины уровень ХГЧ поддерживается посредством стероидогенеза в яичниках примерно до 7 нед беременности [Csapo et al., 1975]. После этого срока выработку этих гормонов берет на себя плацента, и овариэктомия не вызывает выкидыша. ХГЧ присутствует в это время в циркулирующей крови в достаточно высокой концентрации. Возникает вопрос о том, почему же яичники становятся резистентными к гормону в этой стадии.

Существуют ли другие сигналы беременности кроме ХГЧ?

Человеческий хориогонадотропин обладает лютеотропным действием и стимулирует образование стероидных гормонов *in vivo* и *in vitro*. Таким образом, можно полагать, что если у беременной женщины не наступает менструация, то это обусловлено цепью процессов, вызванных образованием ХГЧ в имплантирующейся бластоцисте.

Возможно, однако, что дело обстоит не так просто. Dr. Noratio Croxatto из Сантьяго (Чили) вводил ХГЧ небеременным женщинам с регулярным менструальным циклом к концу лютеальной фазы для того, чтобы убедиться, что ХГЧ может задержать менструацию. Для того чтобы обеспечить поступление гонадотропина в адекватных количествах, применялись различные дозировки и схемы инъекции. Первая инъекция повышала уровень прогестерона в плазме, который, однако, не поддерживался последующими инъекциями ХГЧ. Начало менструации задерживалось лишь на 2 дня, затем она наступала, хотя ХГЧ продолжали вводить. В связи с этими наблюдениями возникает вопрос, действительно ли ХГЧ является лютеотропным фактором, необходимым при беременности.

Вместе с Dr. Chandana Das мы исследовали сыворотки ряда женщин в I триместре беременности. Сыворотки стимулировали образование тестостерона в клетках Лейдига у мышей, причем эта стимуляция зависела от дозы, как и должно быть при использовании гонадотропного материала. Затем сыворотки инкубировались с высокоспецифичными антителами, полученными у приматов против Оч- β -ХГЧ-СА или против цельного высокоочищенного ХГЧ. В обоих случаях антитела против ХГЧ практически полностью удаляли гонадотропное вещество из сыворотки беременной; таким образом,

можно полагать, что если и не все гонадотропные факторы, то большинство их состоит из ХГЧ (или веществ, иммуно-реактивных с антисывороткой против него). Этот вывод подтверждается также исследованиями Garner, Armstrong (1977). Они вводили различные гормоны, например ХГЧ, эстрогены и в сочетании женщинам, у которых по медицинским показаниям беременность прерывалась в I триместре. После удаления продуктов зачатия ХГЧ эффективно поддерживал уровень прогестерона в плазме.

Если ХГЧ является гонадотропином ранней беременности, то почему же его недостаточно для поддержания стероидогенеза у небеременных женщин? С этим связан вопрос о том, что желтое тело беременности, видимо, продолжает реагировать на гонадотропин, сохраняя реактивность к гонадотропину, несмотря на высокие концентрации ХГЧ в крови. В норме следовало бы ожидать, что ХГЧ в больших количествах должны вызывать деградацию тканевых рецепторов [Davies et al., 1978]. Мы высказали предположение, что в начале беременности, кроме ХГЧ, вырабатываются какие-то другие вещества, допускающие сохранение реакции яичников на гонадотропин [Talwar, 1979a]. Это предположение требует проверки.

Другие места действия ХГЧ. Эксперименты с иммунофлюоресценцией показали, что ХГЧ образует почти сплошную оболочку на синцитиотрофобласте. Неясно, что означает такая локализация. Возможно, что именно здесь происходит секреция гормона. Возможно также, что ХГЧ образует оболочку на трофобласте, которая защищает фетоплацентарную ткань от отторжения иммунной системой материнского организма. Человеческий хориогонадотропин может влиять также на метаболические реакции плаценты. В литературе сообщалось также о том, что он стимулирует плацентарную аденилциклазу [Menon, Jaffe, 1973].

Интересное, хотя и спорное, предположение заключается в том, что ХГЧ, возможно, прямо действует на месте имплантации. Предполагается, что на поверхности бластоцисты у кроликов [Saxena, 1979] и мышей [Wiley, 1974] находится гонадотропин.

Доказательство решающего значения ХГЧ для беременности

Есть данные двух типов, которые поддерживают предположение, что ХГЧ необходим для возникновения и поддержания беременности в ее начале. Снижение уровня ХГЧ обычно предвещает выкидыш у женщин.

Введение антисывороток против ХГЧ или антисывороток, вступающих в перекрестную реакцию с гонадотропином, неизбежно приводит к выкидышу у беременных павианов [Stevens, 1974] и макак [Moudgal, 1975].

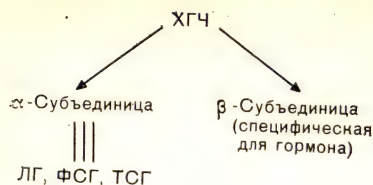


Рис. 24. ХГЧ состоит из двух неидентичных субъединиц. α-Субъединица сходна с α-субъединицами трех других гормонов гипофиза, а β-субъединица определяет гормональную специфичность. Целый ХГЧ не может быть использован для иммунизации из-за его способности вызывать образование антител, которые вступают в перекрестную реакцию с тремя другими гормонами гипофиза.

Химическая природа ХГЧ

ХГЧ выводится с мочой во время беременности. Были разработаны методы очищения этого гормона, который представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 37 900 дальтон. Он содержит около 30 % углеводов. Известна последовательность аминокислот в двух пептидных цепях, из которых состоит гормон [Carlson et al., 1973; Morgan et al., 1975].

Структура молекулы гормона может быть разделена на две единицы (рис. 24). Субъединица α почти идентична субъединице α тиреостимулирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона и лютеинизирующего гормона; гормональная специфичность определяется субъединицей β [Pierce et al., 1971].

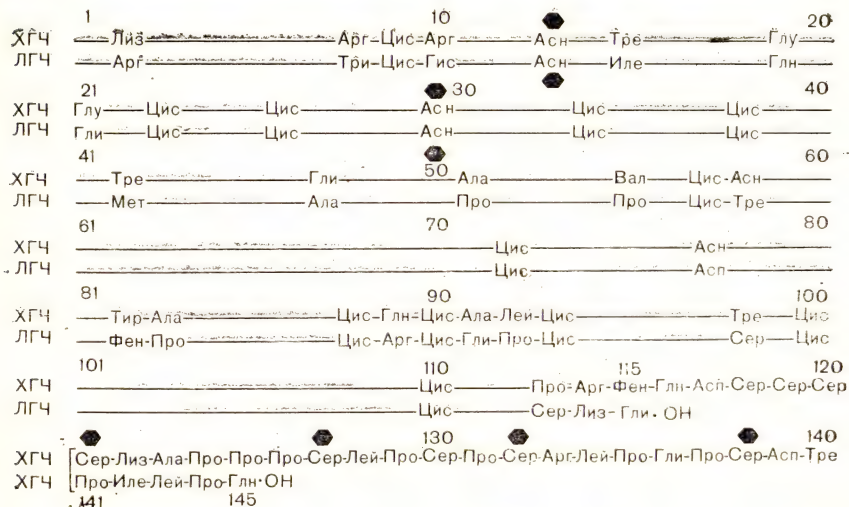


Рис. 25. Сходства и различия первичной структуры β-ХГЧ и β-ЛГЧ. Аминокислоты, общие для двух субъединиц, обозначены сплошной линией, а аминокислоты, различающие две β-субъединицы, перечислены в отдельности. Черный шестиугольник — места прикрепления углеводных остатков

β -Субъединица ХГЧ представляет собой гликопептид со 145 аминокислотными остатками и 6 олигосахаридными цепями. Существуют большие участки гомологичности между β -ХГЧ и β -ЛГЧ. Однако β -ХГЧ отличается от β -ЛГЧ по 51 аминокислотному остатку, 30 из них находятся на С-терминальном конце, а остальные — в оставшейся части молекулы (рис. 25). Эти различия настолько велики, что необходимо рассматривать β -ХГЧ как особый гормон, несмотря на видимое сходство с β -ЛГЧ. Известны случаи, когда замена одной аминокислоты изменяет свойства белков. Содержание углеводов в β -ХГЧ также существенно отличается от β -ЛГЧ.

Вакцины против ХГЧ

Значение ХГЧ в ранний период беременности обсуждалось выше. Было также показано, что введение антител против ХГЧ на ранних стадиях беременности ведет к ее прерыванию. На этом фоне в нескольких лабораториях были сделаны попытки разработать вакцину, способную вызвать образование анти-ХГЧ антител у реципиентов (рис. 26).

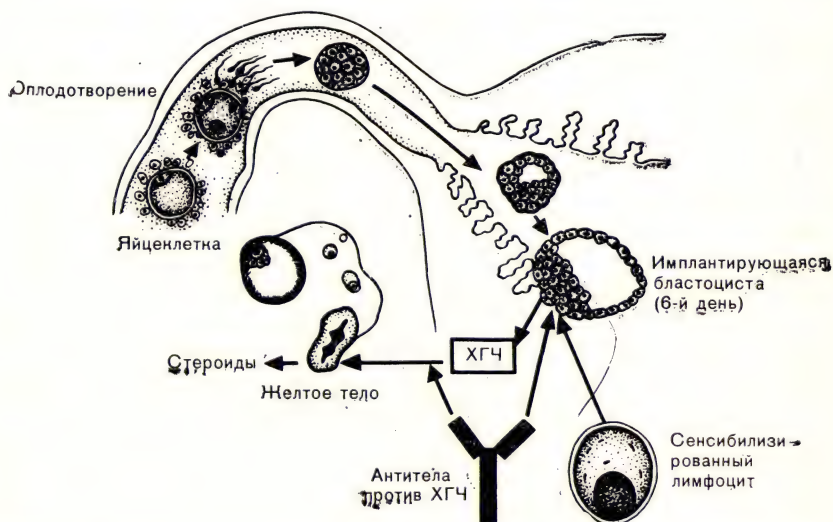


Рис. 26. Принцип регуляции фертильности, основанный на ответе против ХГЧ. ХГЧ можно обнаружить в циркулирующей крови к 8—10-му дню после овуляции, т. е. между 23-м и 26-м днем 28-дневного цикла, когда овуляция имеет место в середине цикла. Предполагается, что ХГЧ восстанавливает желтое тело и поддерживает его функцию (образование прогестерона). Антитела к ХГЧ, нарушающие его действие, блокируют овариальный стероидогенез и вызывают менструацию и потерю яйцеклетки. Антитела и сенсибилизированные лимфоциты могут действовать против фертильности и в других звеньях системы (например, на этапе имплантации) [по Talwar, 1979b].

Человеческий хориогонадотропин не может быть использован в качестве иммуногена, так как α -субъединица его идентична α -субъединице трех других гипофизарных гормонов, т. е. ФСГ, ТСГ и ЛГ. Поэтому он будет провоцировать перекрестные реакции широкого спектра. Иммуногеном может быть или β -субъединица, или части ее.

С-терминальные фрагменты β -ХГЧ

На рис. 25, где показана первичная структура β -ХГЧ и β -ЛГЧ, мы видим, что β -ХГЧ содержит добавочную цепь из 30 аминокислот на С-терминальном конце. Было бы вполне логично предположить, что эта часть молекулы будет лучшим иммуногеном и будет вызывать образование антител, нейтрализующих ХГЧ и не реагирующих перекрестно с ЛГЧ. Возможность использования С-терминальных фрагментов β -ХГЧ изучалась в ряде лабораторий. Louvet с соавт. (1974) применяли ферментативно расщепленный пептид β -ХГЧ, содержащий последовательность 123—145. Пептид был связан с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Для того чтобы вызвать образование антител против пептида у кроликов, был необходим сильный адъювант, как, например, ПАФ. Антитела вступали в иммунную реакцию с ХГЧ, но не могли нейтрализовать его биологическую активность. Schneider с соавт. (1975) синтезировали эйкозапептид, соответствующий последним двадцати С-терминальным аминокислотам β -ХГЧ. Этот пептид самостоятельно или после соединения с человеческим сывороточным альбумином вызывал слабо выраженное образование антител у морских свинок и кроликов, которые давали реакцию пассивной кожной анафилаксии с ХГЧ. По заданию Специальной группы ВОЗ д-р Н. Niall и другие ученые приготовили ряд синтетических фрагментов ХГЧ различной длины. Синтезированные фрагменты были сцеплены с различными носителями. Исследователи этой группы утверждают, что у павианов были получены антитела против терминальных аминокислотных групп 31—35, эффективно блокирующих беременность. Синтетический пептид вызывал образование антител у павианов, причем натуральный фрагмент из 37—39 аминокислот, полученный при обработке химотрипсином, β -субъединица ХГЧ и сам ХГЧ конкурировали с синтетическим фрагментом, содержащим радиоактивную метку, и препятствовали его связыванию с антисывороткой. Однако эти антигены требовались в количестве большем чем в 3,3; 18 и 24 раза. ЛГЧ не мог вытеснять синтетический антиген с меткой в дозах до 2,5 МЕ [Stevens, 1976]. Антисыворотка, полученная к конъюгату пептид — белок у кроликов (адъювант не указан), подавляла биологическую активность хориогонадо-

тропинов человека и павианов при пробе на матке мыши, хотя требовались большие количества антисыворотки к пептиду, чем антисыворотки к β -ХГЧ.

Группа Национального института здоровья в Бетесде (США) также синтезировала ряд пептидов постепенно нарастающего размера и систематически изучала их иммунологические свойства. Согласно полученным результатам, антитела, индуцируемые этими пептидами (123—145 и 116—145) являются в основном антителами, распознающими последовательность, в противоположность антителам, индуцируемым ХГЧ, которые считают конформации. Эти исследования показали, что дипептид Про-Гли (144—145) необходим для связывания антител. При использовании пептидов постепенно нарастающего размера в экспериментах с конкурентным связыванием наблюдали максимальную конкуренцию с пептидом, который состоял из последних 15 аминокислотных групп; реактивность значительно увеличивалась, когда последние 11 аминокислотных групп удлинялись на следующие 4 группы (Арг-Лей-Про-Гли; 133—136) (рис. 27). Другим важным результатом их исследований было отсутствие гормоннейтрализующей активности антител, индуцируемых этими пептидами *in vivo*, хотя антитела были специфичными и не реагировали с ЛГЧ [Matsuura et al., 1979]. Это наблюдение противоречит материалам доклада Специальной группы ВОЗ, изложенным в отчете по Расширенной программе размножения человека за 1978 г.; оно должно быть подтверждено другими исследователями. Группа д-р John P. Hearn в Эдинбурге не смогла получить биологически эффективных антител у мармозеток, используя пептиды, ре-

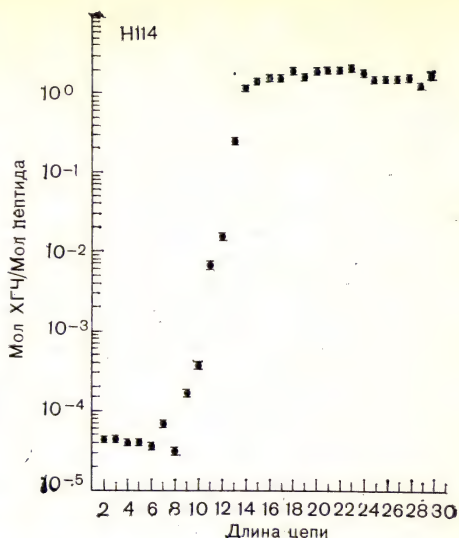


Рис. 27. Конкурентная связывающая активность синтетического пептида нарастающей длины, соответствующего терминальной последовательности карбоксильной группы β -ХГЧ в системе для радиоиммуноанализа (РИА) с ^{125}I -ХГЧ и антисывороткой против синтетического С-концевого пептида (116—145). На оси ординат — число молей немеченого ХГЧ, необходимого для того, чтобы вызвать такое же подавление связывания ^{125}I -ХГЧ с антисывороткой на 1 моль пептида. На оси абсцисс — длина цепи пептида, нарастающей к С-концу. Две горизонтальные черточки отмечают доверительный интервал 95 % для каждой точки [из работы Matsuura et al., 1979].

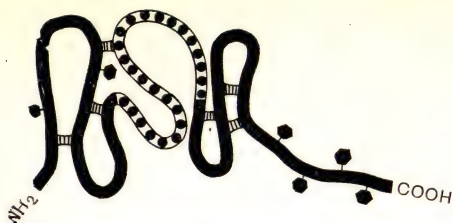


Рис. 28. Схематическая модель β -ХГЧ. Субъединица содержит 12 полицистинов без титруемых тиоловых групп, поэтому можно предполагать, что молекула имеет 6 S—S петель. Эти связи приводят к конформации, необходимой для биологической активности гормона и соединения субъединиц. Восстановленная алкилированная субъединица соединяется с α -субъединицей и лишена биологической активности. Все цистиновые группы установлены; следовательно, петли внутри цепей находятся в центральной части молекулы, соединяющей также детерминанты, важные для распознавания гормоном рецептора на ткани мишени. Специфический С-концевой фрагмент β -ХГЧ, состоящий из последних 30 аминокислотных групп, содержит 7 пролинов и 8 серинов, придающих ригидную конформацию этой части молекулы.

собой две задачи: определить, если это будет возможно, детерминанты β -ХГЧ, важные для биологической активности этого гормона, и обнаружить иммунодоминантные и иммунорецессивные эпитопы в β -ХГЧ (рис. 28).

На основании полученных к настоящему времени данных можно сделать следующие выводы:

1. С-терминальная часть молекулы не распознается рецепторами в органах-мишенях [Ramakrishnan et al., 1978a; Talwar et al., 1978].

2. Часть детерминант, необходимых для биологической активности гормона, находятся между группами 39—71 β -ХГЧ [Ramakrishnan et al., 1978b].

3. С-терминальная часть молекулы имеет преимущественно случайную структуру со слабо выраженной спиральностью, как можно судить по исследованиям кругового дихроизма.

4. С-терминальные пептиды являются значительно более слабыми антигенами, чем β -ХГЧ [Ramakrishnan et al., 1979].

5. Антитела, полученные против С-терминального пептида из 45 аминокислот, обладают низкой способностью нейтрализовать биологическую активность гормона по сравнению

комендованные Специальной группой ВОЗ.

В нашей лаборатории и в Совете по популяциям в Нью-Йорке также изучили ряд синтезированных фрагментов, которые состояли:

- 1) из последних 31 аминокислот (115—145);

- 2) из 35 аминокислот (111—145);

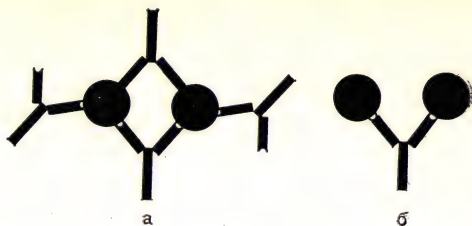
- 3) из 45 аминокислот (101—145);

- 4) из последовательности 39—71;

- 5) из последовательности 39—56 β -ХГЧ.

Три из этих фрагментов представляют С-терминальную последовательность различной длины, а два взяты из центральной части молекулы. Сейчас синтезируются еще две последовательности. Мы ставим перед

Рис. 29. Лучшая нейтрализующая способность поливалентных антител (а) по сравнению с моновалентными антителами (б).



с антисывороткой против β -ХГЧ такого же титра (рис. 29). Вероятно, это объясняется тем, что антитела к С-терминальному пептиду в основном одновалентны, тогда как антитела к β -ХГЧ связываются в среднем с 2—3 рецепторами ХГЧ (см. рис. 39) [Ramakrishnan et al., 1979].

В общем эти исследования позволяют предполагать, что на практике, возможно, было бы трудно работать с С-терминальными пептидами, несмотря на их теоретические преимущества. Они являются слабыми иммуногенами и не всегда вызывают образование достаточно эффективных антител, обеспечивающих нейтрализацию ХГЧ *in vivo*. Однако нельзя исключить возможность того, что когда будут открыты сильные нетоксические адъюванты, пригодные для использования у человека, и более глубоко изучена топология β -ХГЧ, то удастся создать синтетическую вакцину против ХГЧ на основе синтетического пептида.

β -ХГЧ

Если исключить субфрагменты, непригодные для применения на практике, в дальнейшем можно использовать полную субъединицу ХГЧ. В прошлом при использовании β -ХГЧ удалось получить антитела, благодаря которым можно было определять ХГЧ в присутствии ЛГЧ; следовательно, эти антитела были лишены более или менее значительной способности реагировать перекрестно с ЛГЧ [Vaitukaitis et al., 1972].

Большинство препаратов β -ХГЧ отличаются микрогетерогенностью. Они дают от 2 до 8 полос при электрофорезе в полиакриламидных гелях. Отчасти гетерогенность можно объяснить переменным числом терминальных групп сиаловой кислоты на молекуле и, возможно, частичным катаболизмом молекулы при прохождении через органы мишени и экскреторные органы. Кроме того, почти все препараты β -ХГЧ содержат небольшие примеси недиссоциированного ХГЧ. Примесь недиссоциированного ХГЧ может увеличиться в организме животного, и могут выработаться антитела, обладающие сильной перекрестной реактивностью с другими гормонами. По этой причине рекомендовалось подвергать β -ХГЧ иммунохимической обработке [Talwar et al., 1976b],



Рис. 30. Возможные способы получения иммунных ответов против нативного белка или гормона. Контролируемая модификация молекулы с гаптеновыми группами или носителями может придать компонентам антигенность.

которая свела бы к минимуму перекрестные реакции, получаемые с ЛГ и другими гормонами.

β -ХГЧ сам по себе не иммуногенен у человека. Для того чтобы придать ему иммуногенность, было применено два метода (рис. 30).

Гаптеновые производные

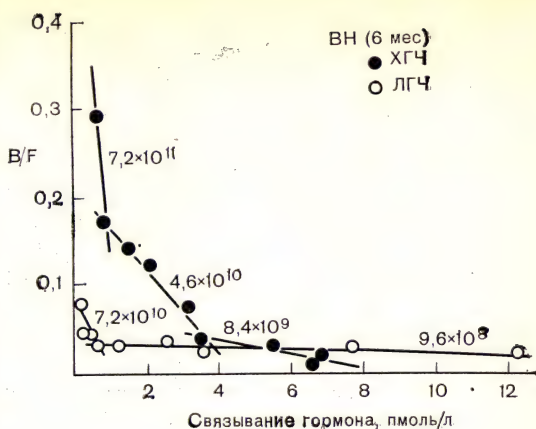
Со времени открытия Ландштейнера известно, что ряд химических групп получает высокую иммуногенность после связывания с белком. Согласно этому принципу, были приготовлены два типа дериватов ХГЧ и/или β -ХГЧ. Stevens (1976) применял дериваты диазотированной сульфаниловой кислоты, и наша группа экспериментировала с ДНФ дериватами β -ХГЧ [Dubey et al., 1976]. Число гаптеновых групп, нагружаемых на гормональную часть молекулы, регулируется таким образом, чтобы создать достаточную «чужеродность» и сделать молекулу иммуногенной для особей того же вида, но при этом ее реактивность не должна полностью измениться.

Конъюгация с носителями

Другой метод придания иммуногенности «своему» белку заключается в соединении его с «чужим» белком-носителем. Исследователи нашей группы считают, что этот метод лучше, чем метод использования гаптеновых дериватов. В качестве носителя для β -ХГЧ был предложен столбнячный анатоксин [Talwar et al., 1976c]. Он был избран по ряду соображений. Столбнячный анатоксин является одной из самых чистых бактериальных вакцин, применяемых у человека. Иммунизация им не вызывает местных реакций, отечности, лихорадки и т. д. Гиперчувствительность к этой вакцине отмечается очень редко по сравнению с различными вакцинами, одобренными для применения у человека. Иммунитет является относительно стойким.

Наконец, хотя это весьма важно, столбняк все еще представляет собой довольно серьезную угрозу для здоровья населения развивающихся стран, и от него погибают довольно много матерей и новорожденных.

Рис. 31. Константы ассоциации антител при связывании ХГЧ и ЛГЧ от обследуемого (ВН), иммунизированного 6 мес назад Оч-β-ХГЧ-СА (4 инъекции 80 мкг эквивалентных β-ХГЧ через каждые 2 нед). Кривая Scatchard разделена на множественные компоненты. Ка для ХГЧ равны $7,2 \cdot 10^{11}$, $4,6 \cdot 10^{10}$ и $8,4 \cdot 10^9$ л/моль, а для ЛГЧ — $4,2 \cdot 10^{10}$ и $9,6 \cdot 10^8$ л/моль. Это указывает на более высокую аффинность антител к ХГЧ, чем к ЛГЧ [по Shastri et al., 1978].



Таким образом, применение столбнячного анатоксина в качестве носителя способствует решению двух задач. Это хороший иммуноген для вакцины, основанной на β-ХГЧ, который редко вызывает побочные реакции и дает длительный иммунитет. Одновременно введение его вызывает образование антител против столбнячного анатоксина у реципиента, что обеспечивает дополнительный иммунопрофилактический эффект.

Вакцина Оч-β-ХГЧ-СА

Приготавливают конъюгат, в котором обработанная иммунохимически (очищенная — Оч) β-ХГЧ соединена со столбнячным анатоксином (СА) в дискретных молекулярных пропорциях [Talwar, 1974; Talwar et al., 1976a, 1976b]. Почти у всех видов животных, которые к настоящему времени участвовали в экспериментах (включая человека), конъюгат вызывает образование антител против ХГЧ и столбнячного анатоксина. Антитела связываются с ХГЧ с высокой аффинностью (рис. 31) ($K_a = 10^8 - 10^{11}$ л/моль) [Shastri et al., 1978]. Антитела различают ХГЧ и ЛГЧ и избирательно нейтрализуют биологическую активность ХГЧ *in vivo* и *in vitro* так, что действие ЛГ сохраняется [Das et al., 1978; Mohini et al., 1978; Ramakrishnan et al., 1978b] (рис. 32). Д-р Cornelia Channing испытала некоторые сыворотки на клетках гранулезы (гранулезных клетках) обезьян; такое количество сыворотки, которое нейтрализовало 138 нг ХГЧ, могло нейтрализовать 5 нг ЛГ. Антитела эффективно блокировали вызываемое ХГЧ повышение уровня прогестерона у макак резусов и грызунов *in vivo*, а также вызываемое ХГЧ увеличение массы матки и вентральной простаты. Антитела к Оч-β-ХГЧ-СА при вве-

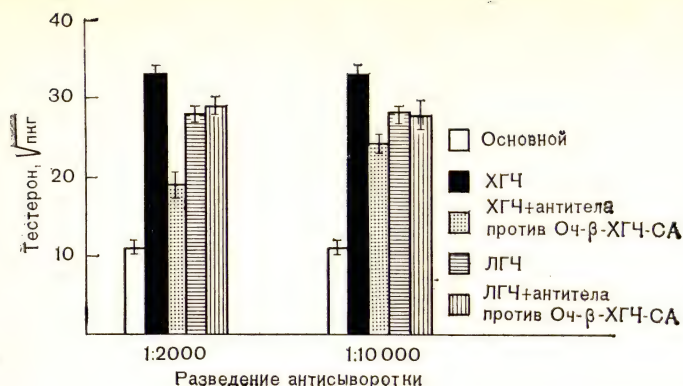


Рис. 32. Избирательная нейтрализация антителами к Оч-β-ХГЧ-СА биологической активности ХГЧ по сравнению с ЛГЧ. Тест-системой служили мышинные клетки Лейдига, в которых определялся тестостерон, вырабатываемый при гонадотропной стимуляции [по Das et al., 1978].

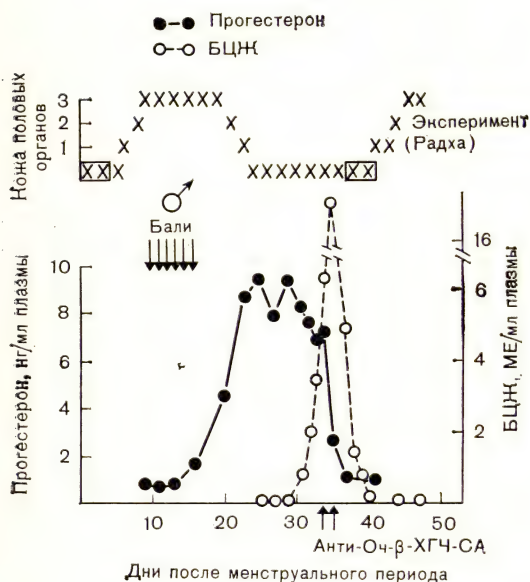


Рис. 33. Прерывание беременности у павианов путем введения антител, индуцируемых вакциной Оч-β-ХГЧ-СА. Самка Радха была спарена с самцом Бали известной фертильности; дни обозначены стрелками. Цикл был овуляторный, судя по уровню прогестерона в плазме. Антитела были введены на 18-й день беременности, когда в циркулирующей крови можно было обнаружить хориогонадотропин павианов (ХГП). Антитела вызвали снижение уровня ХГП и прогестерона и маточное кровотечение.

дении павианам на 18-й день беременности эффективно прерывали ее (рис. 33) [Tandon et al., неопубликованные данные; Talwar et al., 1980].

У макак резусов и павианов, иммунизированных этой вакциной с образованием антител в высоком титре, продолжают нормальные регулярные менструальные циклы. Уровень прогестерона в плазме в лютеиновой фазе указывал на овуляцию. Не было обнаружено нежелательных нарушений функций почек, печени и других органов. Функции коры надпочечников, щитовидной железы и гипофиза были нормальными [Sharma et al., 1976]. Обезьянам, иммунизированным Оч- β -ХГЧ-СА, неоднократно вводили ХГЧ, чтобы имитировать условия ранней беременности. При вскрытии в почках и сосудистом сплетении не было обнаружено патологических отложений, обусловленных наличием в организме иммунных комплексов. В гипофизе и других органах не найдено патологических изменений [Nath et al., 1976a; Gupta et al., 1978]. Сыворотки иммунизированных приматов не содержали ревматоидного фактора антител против ДНК и против микросом, и при помощи методов иммунофлюоресценции не обнаружено какой-либо реакции антисывороток с различными органами человека [Nath et al., 1976b].

Была начата I фаза клинических испытаний этой вакцины у 4 женщин в детородном возрасте, которые уже имели по несколько детей и обратились в клинику для перевязки маточных труб. Через каждые 2 нед им 4 раза вводили вакцину (в количестве, эквивалентном 80 мкг β -ХГЧ). У всех этих женщин образовались антитела к ХГЧ и столбнячному анатоксину (рис. 34) [Talwar et al., 1976a, b]. У 3 из 4 женщин продолжались нормальные менструальные циклы. Биопсия эндометрия и измерение прогестерона плазмы в лютеиновой фазе указывали на наличие овуляторных циклов. У 4-й женщины была лактационная аменорея, продолжавшаяся около 9 мес, после чего начались менструальные циклы. Иммунизация не препятствовала процессу лактации и в молоке не было обнаружено антител (>2 нг/мл связанного ХГЧ). Во всех случаях полностью сохранилось либидо. Клинические и лабораторные исследования, которые периодически повторялись исследователями двух клинических групп, работавших независимо друг от друга, не выявили никаких отклонений от нормы [Kumar et al., 1976]. Антительный ответ продолжался 300—500 дней.

Затем I фаза клинических испытаний была продолжена в другом центре в Индии, в Бомбее (проф. S. Shahani), а также была проведена еще в 4 центрах: Хельсинки (проф. Tapani Luukkainen), Упсала (проф. Elof Johansson), Бахия (проф. Elsimar Coutinho) и Сантьяго (проф. Horati-Croxatto), под руководством Международного комитета по изучению контрацепции (ICCR) Совета популяций. Всего вакциной было

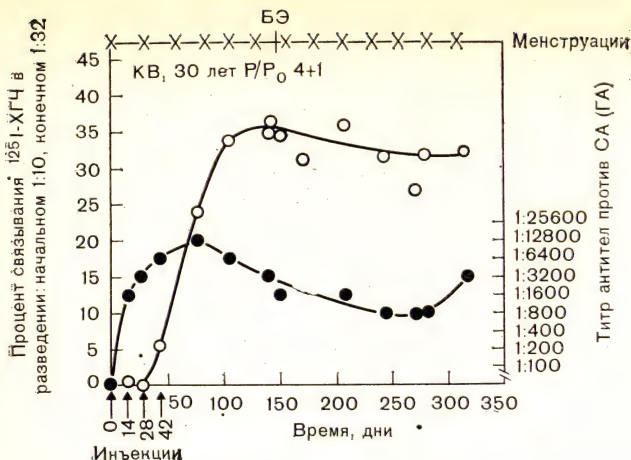


Рис. 34. Кинетика титров антител к ХГЧ и СА у человека (KW), получившего инъекции Оч-β-ХГЧ-СА (4 инъекции по 80 мг-экв β-ХГЧ через каждые 2 нед). Крестики на верхней оси абсцисс обозначают даты менструаций; БЭ — дата биопсии эндометрия [по Talwar et al., 1976a].

иммунизировано 63 обследуемых. Тщательные исследования, которые проводились согласно всесторонне продуманной схеме, требующей периодических определений 56 различных параметров, доказали безопасность этой вакцины. Метаболические, эндокринные функции и функции различных органов остались в норме [Hingorani, Kumar, 1979; Shahani et al., 1979; Segal et al. Отчет об испытаниях ICCR, принятый к печати]. Иммунный ответ во всех случаях был обратим. У ряда обследуемых при введении экзогенного ХГЧ циркулирующие антитела связывали гормон в виде биологически неактивных комплексов.

ХГЧ как таковой не усиливал иммунный ответ (см. рис. 38, в).

Эти исследования дали ценные сведения о достоинствах и недостатках рассматриваемой вакцины. Безвредность вакцины и отсутствие токсичности были обнаружены на том уровне иммунизации, которого удалось достичь. Однако наблюдалась большая индивидуальная вариабельность титров антител. Низкие титры антител не предупреждали беременности. Таким образом, вакцина нуждается в дальнейшем усовершенствовании. Необходимо создать соответствующий иммунопотенцирующий агент, лишенный токсичности, который можно было бы применять у человека. Кроме того, необходимо разработать такие методы, которые решили бы проблему индивидуальной вариабельности и обеспечили бы сверхпороговые реакции если не у всех реципиентов, то у большинства из них.

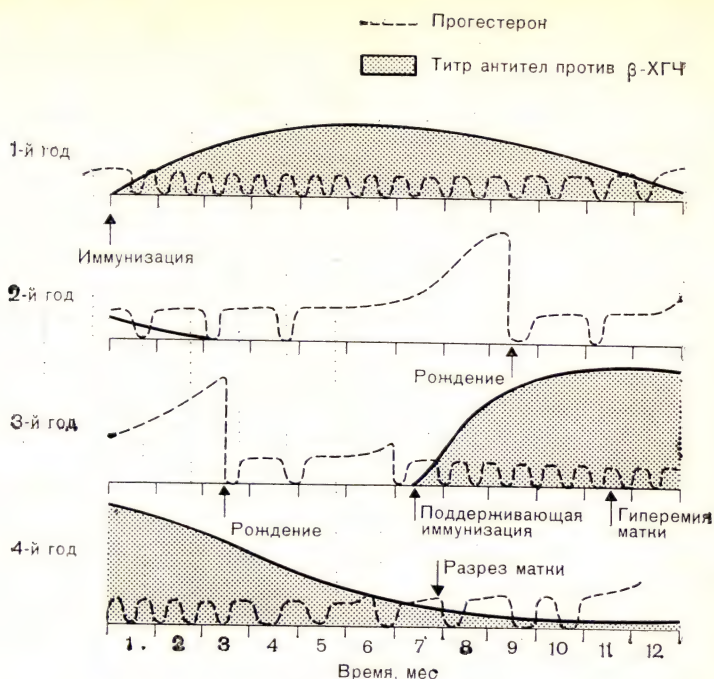


Рис. 35. Влияние иммунизации против β -субъединицы ХГЧ на фертильность у мармозеток [по Hearn, 1979].

Работа других ученых по иммунизации против β -ХГЧ

John P. Hearn в Эдинбурге осуществил весьма интересные и оригинальные эксперименты по иммунизации мармозеток β -ХГЧ. Иммунизация приводила к обратимому подавлению фертильности у этого вида приматов [Hearn, 1976]. При высоких титрах антител зачатие предупреждалось (рис. 35). Когда уровень антител снижался, зачатие имело место, но в дальнейшем происходил выкидыш. При дальнейшем снижении титра антител фертильность восстанавливалась и животные производили, видимо, здоровое потомство [Hearn, 1979]. Мы также подтвердили восстановление фертильности и отсутствие отклонений у потомства в опытах на павианах [Talwar et al., 1979], однако при умеренном снижении титра антител у павианов не наблюдалось таких частых выкидышей, как у мармозеток.

Stevens (1976) также отмечает эффективность иммунизации β -ХГЧ против беременности у павианов. Предварительные опыты на шимпанзе, проведенные Roy Hertz вместе с исследователями Совета популяций, показывают, что у обезьян

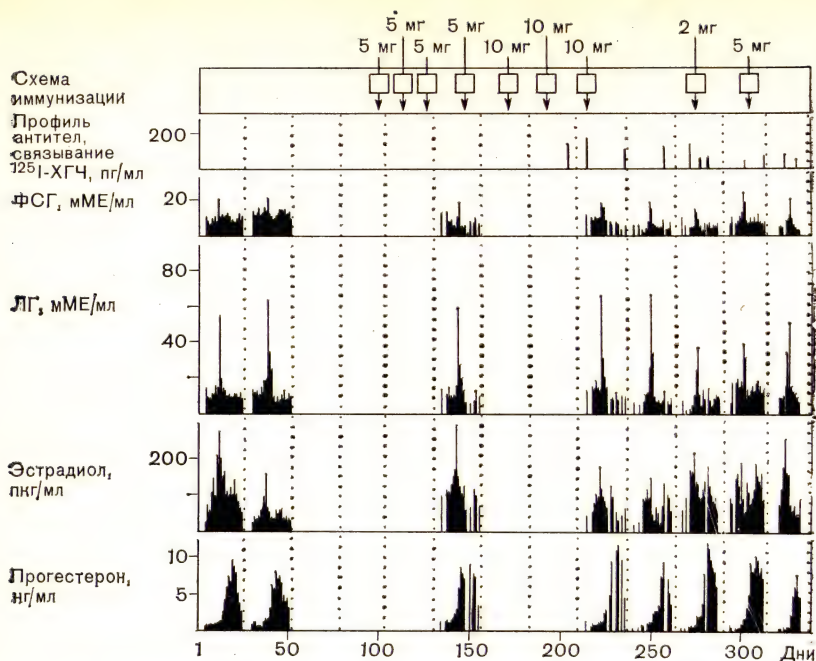


Рис. 36. Влияние иммунизации модифицированным гаптеном β -ХГЧ на гормональный профиль крови у женщины. Показаны уровни гормона до иммунизации, а также схемы иммунизации и титры антител к ХГЧ [по Pala et al., 1976].

этого вида беременность, видимо, может быть предупреждена иммунизацией Оч- β -ХГЧ-СА, если титры антител достаточно высоки.

Pala с соавт. (1976) иммунизировали 2 женщин β -ХГЧ модифицированным гаптеном. Эстрогены, прогестерон и ЛГ ежедневно определялись до и после иммунизации, причем не было обнаружено никаких нарушений, связанных с иммунизацией (рис. 36).

Современное состояние вопроса о вакцинах против ХГЧ

Поскольку ХГЧ представляет собой вещество, химический состав которого известен и которое можно получить в очищенном виде из материала, доступного в больших количествах (т. е. из мочи беременных), то вероятно, что максимальные успехи были достигнуты именно в области вакцин против ХГЧ. Однако было бы неверно считать, что эта вакцина скоро станет общедоступной.

Серьезный недостаток ее заключается в том, что для эффективного предупреждения беременности необходимо, чтобы в организме содержались антитела высоких титров. Это объясняется тем, что ХГЧ вырабатывается в больших количествах и уровень его круто повышается в начале беременности. Вакцина, которая в дальнейшем может быть использована на практике, должна индуцировать высокие титры антител против ХГЧ. Кроме того, антительный ответ, очевидно, надо вызывать если не у всех реципиентов, то у большинства. Для того чтобы решить эти проблемы, необходимо разработать соответствующие адъюванты. В литературе есть сообщения о том, что гликопептиды, выделенные из клеточной стенки микобактерий, обладающей свойствами ПАФ и вместе с тем не токсичны [Audibert et al., 1976]. Будущие исследования покажут, достаточно ли будет этих гликопептидов для решения данной проблемы. Липополисахариды, выделенные из грамотрицательных бактерий и измененные химически для уменьшения их токсичности [Chedid et al., 1975], также заслуживают изучения. В настоящее время фармацевтические фирмы и научно-исследовательские организации активно занимаются исследованием адъювантов для решения аналогичных проблем, связанных с разработкой вакцин против малярии и других паразитарных болезней. Таким образом, надо надеяться, что в ближайшем будущем мы будем располагать рядом веществ, пригодных для добавления в качестве адъюванта к антифертильным вакцинам.

После разработки способов усиления иммунитета встанет задача найти возможности избежать возникновения нежелательных перекрестных реакций против ЛГ и других гормонов и тканей организма. С-терминальные пептиды, видимо, лишены перекрестной реактивности против ЛГЧ, однако антитела распознают последовательность пептидов, которая может иметься во многих других белках. При создании вакцины, основанной на С-терминальном пептиде, необходимо детально проверять ее безопасность. Основным недостатком С-терминальных пептидов, особенно уникального фрагмента ХГЧ из 30 аминокислот, является слабая иммуногенность и недостаточная способность антител постоянно (длительно) нейтрализовать ХГЧ. В табл. 7 вкратце перечислены свойства антител к β -ХГЧ и С-терминальным фрагментам β -ХГЧ. Восстановленные алкилированные β -ХГЧ индуцируют антитела, практически лишенные перекрестной реактивности с ЛГЧ. По своей реактивности они подобны С-терминальным пептидным антителам. Будущие исследования покажут, сможет ли этот дериват служить также иммуногеном.

Проблема вакцин, основанных на С-терминальном пептиде и на β -ХГЧ, осложняется появившимися недавно сообщениями о присутствии ХГЧ в других тканях, кроме плаценты, и в опухолях. Нетрофобластные ткани несомненно продуцируют

Таблица 7. Свойства антител к β -ХГЧ и С-терминальным фрагментам β -ХГЧ и β -ЛГЧ

	С-терминальные пептиды из β -ХГЧ, отличающиеся от β -ЛГЧ	β -ХГЧ
Иммуногенность	Плохая	Хорошая
Антигенные детерминанты	Одна	Три
Иммунная перекрестная реактивность	Отсутствует с ЛГЧ	Низкая с ЛГЧ
Антитела	Распознают последовательность аминокислот	Распознают конформацию
Нейтрализация биологической активности ХГЧ	Не нейтрализуют постоянно (длительно), особенно in vivo	Нейтрализуют ХГЧ постоянно in vivo и in vitro
Эффективность в предотвращении беременности		
а. Активная иммунизация	Противоречивые данные	Эффективна у мармозеток, павианов и шимпанзе
б. Пассивная иммунизация	Нет четких данных	Эффективна у мармозеток, павианов и шимпанзе

его в очень малых количествах, и, видимо, вырабатываемый ими гормон не оказывает физиологического действия. Тем не менее необходимы длительные испытания токсичности для того, чтобы полностью исключить возможный риск иммунизации против ХГЧ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Acevedo H. F., Slifkin M., Pouchet G. R., Pardo M. — Cancer, 1978, v. 41, p. 1217.
- Arimura A., Sato H., Kumasaka T. et al. — Endocrinology, 1973, v. 93, p. 1092.
- Artzt K., Bennet D., Jacob F. — Proceedings of the national Academy of Sciences (USA), 1973, v. 70, p. 2988.
- Artzt K., Dubois P., Bennet D. et al. — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1974, v. 71, p. 811.
- Audibert F., Chedid L., Lefrancier P. et al. — Cellular Immunology, 1976, v. 21, p. 243.
- Beas F., Salinas A., Gonzalez F. et al. — Hormone and Metabolic Research, 1975, v. 7, p. 515.
- Beer A. E., Billingham R. E., Young I. S. L. — Journal of Experimental Medicine, 1972, v. 135, p. 1177.
- Behrman S. J., Amano Y. — Contraception, 1972, v. 5, p. 357.
- Behrman S. J., Yoshida T., Amano Y., Paine P. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1974, v. 118, p. 616.
- Beier H. M. — Journal of Reproduction and Fertility, 1974, v. 37, p. 221.
- Bohn H. WHO Symposium on Development of Vaccines for Fertility Regulation, p. 111. Scriptor, Copenhagen, 1976.
- Bourdel G., Li C. H. — Acta endocrinologica (Kloh), 1963, v. 42, p. 473.
- Braunstein G. D. — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 389. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.

- Buc-Caron M. et al.* — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1974, v. 71, p. 1730.
- Cardinali D. P., Nagle C. A., Rosner J. M.* — In: Neuroendocrine Regulation of Fertility, p. 206. Edited by T. C. Anand Kumar, Basel, 1976.
- Carlsen R. B., Bahl O. P., Swaminathan N.* — Journal of Biological Chemistry, 1973, v. 248, p. 6810.
- Catt K. J., Dufau M. L., Vaitukaitis J. L.* — Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1975, v. 40, p. 537.
- Channing C. P., Kammerman S.* — Endocrinology, 1973, v. 93, p. 1035.
- Chedid L., Audibert E., Bona C. et al.* — Infection and Immunity, 1975, v. 12, p. 714.
- Chen H. C., Hodgen G. D., Matsuura S. et al.* — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1976, v. 73, p. 2885.
- Cohen H., Strampp A.* — Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1976, v. 152, p. 408.
- Csapo A. J., Dray F., Erdos T.* — Endocrinology, 1975, v. 97, p. 603.
- Das C., Salahuddin M., Talwar G. P.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 171.
- Das C., Talwar G. P., Ramakrishnan S. et al.* — Contraception, 1978, v. 18.
- Davies T. F., Dufau M. L., Catt K. J.* — Clinical Obstetrics and Gynecology, 1978, v. 5, p. 329.
- Desjardins C., Kirton K. T., Hafs H. D.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1966, v. 11, p. 237.
- Dubey S. K., Salahuddin M., Shastri N., Talwar G. P.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 141.
- Dudkiewicz A. B., Noske I. G., Shivers C. A.* — Fertility and Sterility, 1975, v. 26, p. 686.
- Dunbar B. S., Raynor B. D.* — Biology of Reproduction, 1980, v. 22, p. 941.
- Ferrin M., Zimmering P. E., Lieberman S., Van de Wiele R. L.* — Endocrinology, 1968, v. 83, p. 565.
- Fraser H. M.* — In: Immunisation with Hormones in Reproduction Research, p. 107. Edited by E. Nieschlag. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1975.
- Garner P. R., Armstrong O. T.* — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1977, v. 128, p. 469.
- Gaugas J. M., Wright C., Curzen P.* — British Journal of Experimental Pathology, 1974, v. 55, p. 478.
- Gibbons J. M., Mitnick M., Chieffo N.* — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1975, v. 121, p. 127.
- Glass L. E., Hanson J. E.* — Fertility and Sterility, 1974, v. 25, p. 484.
- Gnanaprakasam M. S., Gupta P. D., Talwar G. P.* — Molecular and Cellular Endocrinology, 1976, v. 6, p. 81.
- Gooding L. R., Edidin M.* — Journal of Experimental Medicine, 1974, v. 140, p. 61.
- Gupta P. D., Nath I., Talwar G. P.* — Contraception, 1978, v. 18, p. 91.
- Gwatkin R. B. L.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 115. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Gwatkin R. B. L., Williams D. T.* — In: 9th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. Abst. No. 7, 1976.
- Hanson F. W., Powell J. E., Stevens V. C.* — Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1971, v. 32, p. 211.
- Hayashida T., Farooq A.* — General and Comparative Endocrinology, 1969, v. 12, p. 124.
- Hearn J. P.* — In: Symposium on Immunology of HCG. Bellagio, Italy, 1976.
- Hearn J. P.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 427. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Hingorani V., Kumar S.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 467. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.

- Hodges J. K., Hearn J. P. — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 87. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Inoue M., Wolf D. P. — Biology of Reproduction, 1974, v. 12, p. 535.
- Jilek F., Pavlok A. — Journal of Reproduction and Fertility, 1975, v. 42, p. 377.
- Joshi M. S., Murray I. M. — Journal of Reproduction and Fertility, 1974, v. 37, p. 361.
- Koch Y., Wilchek M., Friedkin M. et al. — Biochemical and Biophysical Research Communications, 1973, v. 55, p. 616.
- Kometani K., Paine P., Crossman J., Behrman S. J. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1973, v. 16, p. 351.
- Koren Z., Abrams G., Behrman S. J. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1968, v. 102, p. 340.
- Koren Z., Srivannaboon S., Behrman S. J. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1970, v. 108, p. 666.
- Krishnan R. S., Daniel J. C., Jr. — Science, 1967, v. 158, p. 490.
- Kumar S., Sharma N. C., Bajaj J. S. et al. — Contraception, 1976, v. 13, p. 253.
- Levin L., Tyndale H. H. — Endocrinology, 1937, v. 21, p. 619.
- Lin T. M., Halbert S. P., Kiefer D. et al. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1974, v. 118, p. 223.
- Louvet J. P., Ross G. T., Birken S., Canfield R. E. — Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1974, v. 39, p. 1155.
- Madhwaraj H. G., Moudgal N. R. — Endocrinology, 1970, v. 86, p. 874.
- Manarang-Pangen S., Menge A. C. — Fertility and Sterility, 1971, v. 22, p. 367.
- Matsuura S., Ohashi M., Chen H. C., Hodgen G. D. — Endocrinology, v. 104, p. 396.
- Menon R. M., Jaffe R. B. — Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1973, v. 36, p. 1104.
- Mohini P., Chapekar T. C., Benjamin A. et al. — Contraception, 1978, v. 18, p. 59.
- Monastirsky R., Schunner E. B., Dev R. B. — Journal of Reproduction and Fertility, 1974, v. 39, p. 387.
- Morgan F. S., Birken S., Canfield R. E. — Journal of Biological Chemistry, 1975, v. 250, p. 5247.
- Moudgal N. R. — In: Immunization with Hormones in Reproduction Research, p. 233. Edited by E. Nieschlag. North-Holland Inc. Amsterdam, 1975.
- Murthy H. M. S., Ramasharma K., Srinath B. R., Moudgal N. R. — In: VII Congress of the International Primatological Society Bangalore, India, 1979.
- Nath I. K., Dubey S. K., Talwar G. P. — Contraception, 1976, v. 13, p. 231.
- Nath I. K., Gupta P. D., Bhuyan U. N., Talwar G. P. — Contraception, 1976a, v. 13, p. 213.
- Nieschlag E., Usadel K. H., Wickings E. J. et al. — In: Immunization with Hormones in Reproduction Research, p. 155. Edited by E. Nieschlag. North-Holland Inc. Amsterdam, 1975.
- Noda Y., Mori T., Nishimura T. — In: IV International Congress of Immunology. Paris, July 21—26, 1980.
- Oikawa T., Yanagimachi R. — Journal of Reproduction and Fertility, 1975, v. 45, p. 387.
- Pala A., Ermini M., Caranza L., Beriagiano G. — Contraception, 1976, v. 14, p. 579.
- Pierce J. G., Liao T. H., Howard S. M. et al. — Recent Progress in Hormone Research, 1971, v. 27, p. 165.
- Porter C., Highfill D., Winovich R. — International Journal of Fertility, 1970, v. 15, p. 171.
- Prahalada S., Venkatramaiah M., Jagannadha Rao A., Moudgal N. R. — Contraception, 1975, v. 12, p. 137.
- Quadri S. K., Harbers L. H., Spies H. G. — Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1966, v. 123, p. 809.

- Ramakrishnan S., Das C., Dubey S. K. et al.* — Journal of Reproductive Immunology, 1979, v. 1, p. 249.
- Ramakrishnan S., Das C., Talwar G. P.* — Biochemical Journal, 1978a, v. 176, p. 599.
- Ramakrishnan S., Das C., Talwar G. P.* — Contraception, 1978b, v. 18, p. 51.
- Rao A. J., Moudgal N. R., Madhwaaraj H. G. et al.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1974, v. 37, p. 323.
- Robertson O. M., Sugimoto H., Hernandez H. M. et al.* — Acta endocrinologica (Kbh), 1978, v. 89, p. 492.
- Sacco A. G., Mintz B.* — Biology of Reproduction, 1975, v. 12, p. 498.
- Sacco A. G., Shivers C. A.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1973, v. 32, p. 403.
- Saxena B. B.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 319. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Saxena B. B., Hason S. H., Haour F., Sctomidt Gallwitzer M.* — Science, 1974, v. 184, p. 793.
- Schneider C. H., Blaser K., Pfeuti C., Gruden E.* — FEBS Letters, 1975, v. 50, p. 272.
- Schwartz N.* — Biology of Reproduction, 1974, v. 10, p. 236.
- Segal S. J., Maruo T., Adejuwon C., Koide S. S.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 399. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Shahani S. M., Kulkarni P. P., Patel K. L.* — In: Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility, p. 473. Edited by G. P. Talwar. Elsevier, North-Holland Inc. New York, 1979.
- Shahani S. M., Radbidri J. R., Rao S. S.* — International Journal of Fertility, 1972, v. 17, p. 161.
- Sharma N. C., Goel B. K., Bajaj J. S., Talwar G. P.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 201.
- Shastri N., Dubey S. K., Vijayaraghavan S. et al.* — Contraception, 1978, v. 18, p. 23.
- Shivers C. A.* — In: Development of Vaccines for Fertility Regulation, p. 81. WHO Session: Third International Symposium on Immunology of Reproduction. Scriptor, Copenhagen, 1976.
- Shivers C. A., Dunbar B. S.* — Science (N Y), 1977, v. 197, p. 108.
- Shivers C. A., Metz C. B., Lutwak-Mann C.* — Journal of Reproduction and Fertility, 1964, v. 8, p. 115.
- Stevens V. C.* — In: Seventh Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control, p. 357. Karolinska Institutet, Stockholm, 1974.
- Stevens V. C.* — In: Development of Vaccines for Fertility Regulation, p. 93. Varna Symposium, 1976.
- Stumpf W. E., Sar M.* — Proceedings of the Vth International Congress on Endocrinology, 1976, v. 1, p. 18.
- Sundaram K., Chang C. C., Laurence K. A. et al.* — Contraception, 1976, v. 14, p. 639.
- Talaat M., Laurence K.* — Endocrinology, 1969, v. 84, p. 185.
- Talwar G. P.* — In: Seventh Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control, p. 371. Karolinska Institutet, Stockholm, 1974.
- Talwar G. P., Dubey S. K., Salahuddin M., Shastri N.* — Contraception, 1976c, v. 13, p. 153.
- Talwar G. P., Sharma N. C., Dubey S. K. et al.* — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1976a, v. 73, p. 218.
- Talwar G. P., Sharma N. C., Dubey S. K. et al.* — Contraception, 1976b, v. 13, p. 131.
- Talwar G. P., Dubey S. K., Salahuddin M. et al.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 237.
- Talwar G. P., Ramakrishnan S., Das C. et al.* — Endocrinology (Singapore), 1978, v. 11, p. 472.

- Talwar G. P. Plenary Lecture in International Congress on Hormonal Steroids. — Journal of Steroid Biochemistry (suppl.), 1979a, v. 11, p. 27.
- Talwar G. P. — Journal of Reproductive Biomedicine, 1979b, v. 22, p. 61.
- Talwar G. P., Das C., Tandon A. et al. — In: Non-human Primate Models for Study of Human Reproduction, p. 190. Edited by T. C. Anandkumar. Karger, Basel, 1980.
- Thau R. B., Sundaram K., Thornton Y. S., Seidman L. S. — Fertility and Sterility, 1979, v. 31, p. 200.
- Vaitukaitis J. L., Braunstein G. D., Ross G. T. — American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1972, v. 113, p. 751.
- Van Damme M. P., Robertson D. M., Diczfalussy E. — Acta endocrinologica (Kbh), 1974, v. 77, p. 655.
- Vyazov O. E. — Immunologiya Embryogeneza. Medgiz, Moscow, 1962.
- Wakabayashi K., Tamaoki B. — Endocrinology, 1966, v. 79, p. 577.
- Wardlow S., Lauresen N. H., Saxena B. B. — Acta endocrinologica (Kbh), 1975, v. 79, p. 568.
- Wiley L. D. — Nature (Lond.), 1974, v. 252, p. 715.
- Yoshimoto Y., Naljsen A. A., Odell W. D. — Science, 1977, v. 197, p. 575.

ГЛАВА 11

ВОЗМОЖНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ НА РОСТ ОПУХОЛЕЙ, ВЫРАБАТЫВАЮЩИХ ЭТИ БЕЛКИ

ЧАСТОТА ОПУХОЛЕЙ, СЕКРЕТИРУЮЩИХ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ

В последнее время появилось много сообщений о наличии в циркулирующей крови больных с опухолями эмбриональных белков. Было обнаружено несколько видов эмбриональных белков, основное место среди них занимают ХГЧ, α -фетопроtein и эмбрионально-раковый антиген. В литературе появились обзорные статьи об α -фетопроteине и эмбрионально-раковом антигене [Abelev, 1971; Shuster et al., 1977; Gold et al., 1978]. В этой главе мы будем рассматривать только ХГЧ в качестве прототипа фетоплацентарного белка, образуемого также некоторыми раковыми опухолями. Ряд опухолей вырабатывает этот белок в больших количествах, другие — только в малых дозах; например, у больных с такими трофобластными опухолями, как хориокарциномы, уровень ХГЧ в циркулирующей крови очень высок, тогда как у больных с различными другими опухолями гормон присутствует в значительно меньших количествах. В табл. 8 перечислены некоторые опухоли, в которых обнаружена секреция ХГЧ. Перечень в этой таблице неполный. Существует много публикаций на эту тему. Мы приводим только отдельные примеры, чтобы показать, как часто происходит синтез ХГЧ в опухолях.

При помощи высокоспецифической и высокоразрешающей аналитической системы было вычислено, что в среднем у

Таблица 8. Частота обнаружения иммунореактивного ХГЧ в сыворотке у больных с новообразованиями

Тип новообразования	Процент положительных по ХГЧ	Литературный источник
Гестационная хориокарцинома	100	[Vaitukaitis, 1974; Dawood, 1975]
Опухоли семенников	51—89	[Rosen et al., 1975; Newlands et al., 1976; Lange et al., 1976]
Рак яичника	40—42	[Rosen et al., 1975; Braunstein, 1979]
Рак шейки матки	28	[Gupta et al., неопубликованные данные нашей лаборатории]
Рак молочной железы	12—30	[Braunstein et al., 1973; Sheth et al., 1974; Gailani et al., 1976]
Рак желудочно-кишечного тракта	17—21	[Braunstein et al., 1973; Vaitukaitis, 1974]
Опухоль щитовидной железы	25	[Braunstein, 1979]
Опухоль легкого	9—16,8	[Rosen et al., 1975]
Меланома	9—28	[Gailani et al., 1976; Braunstein, 1979]
Рак кроветворной ткани	5,3	[Braunstein et al., 1973; Rosen et al., 1975; Gailani et al., 1976]
Саркома	13,3	[Braunstein, 1979]
Рак почек	7,0	[Braunstein, 1979]

19,3 % больных с нетрофобластными опухолями кровь содержит ХГЧ в количествах, поддающихся выявлению [Braunstein, 1979]. Конечно, трофобластные опухоли всегда синтезируют ХГЧ. Среди нетрофобластных опухолей большая частота выработки ХГЧ наблюдается в семенных карциномах и карциномах яичников, присутствие ХГЧ было обнаружено у 40—89 % таких больных. Опухоли молочной железы синтезируют ХГЧ в 12—30 % случаев.

Частота образования ХГЧ опухолями фактически может быть более высокой, чем можно судить по анализу сывороток. Многие опухоли могут либо вырабатывать этот белок в количествах, меньших, чем доверительный интервал аналитической системы, либо способность к секреции этого гормона может быть недостаточно выражена. McManus с соавт. (1976) при помощи иммуноферментативных методов обнаружили ХГЧ в цитоплазме или на поверхности у 89 % нетрофобластных опухолей. При помощи применяемого ими метода не удалось обнаружить этого белка ни в одной из тканей, взятых от лиц контрольной группы. Аналогичные наблюдения сделали Acevedo с соавт. (1978), Ногне с соавт. (1976). Если эти сообщения будут подтверждены на большем материале, то, очевидно, надо полагать, что большинство опухолей синтезирует ХГЧ,

но только некоторые из них способны выделять белок в кровь так, чтобы его концентрация была достаточно высокой для выявления с помощью аналитического метода. Отсюда можно сделать следующие выводы: 1) наличие ХГЧ в сыворотке, возможно, не является точным показателем злокачественного процесса; 2) необходимо исследовать опухоли при помощи иммунофлюоресцентных или иммуноферментативных методов с соответствующим контролем и при использовании высокоспецифических сывороток для того, чтобы подтвердить или опровергнуть способность опухолей синтезировать ХГЧ.

Количество ХГЧ, циркулирующего в крови у больных с нетрофобластными опухолями, несомненно, низкое, обычно 5—25 ММЕ/мл сыворотки. Напротив, при трофобластных опухолях уровень ХГЧ в сыворотке составляет примерно 0,6—1280 МЕ/мл [Dawood, 1975]. Содержание ХГЧ в крови в течение I триместра беременности составляет 30—46 МЕ/мл [Braunstein et al., 1976]. Таким образом, мы видим, что количество ХГЧ, циркулирующего в крови при нетрофобластных опухолях, значительно меньше (в 2000 раз или меньше), чем при беременности. Количество эмбриональных белков, синтезируемых и секретируемых при беременности и опухолях, влияет на количество антител, необходимых для нейтрализации ХГЧ, т. е. при нетрофобластных опухолях их требуется значительно меньше, чем при беременности.

ИГРАЕТ ЛИ КАКУЮ-ЛИБО РОЛЬ ХГЧ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ?

Известно, что биологически ХГЧ действует на стероидогенез в желтом теле и в клетках Лейдига. Нет никаких указаний на присутствие рецепторов ХГЧ на опухолевых клетках. Однако пока нет никаких наблюдений, которые исключали бы их возможное наличие. В клетках-мишенях рецепторы ХГЧ находятся на мембранах. В трофобласте [Dreskin et al., 1970], а также в некоторых опухолевых клетках, вырабатывающих ХГЧ [Slivkin et al., 1978], было обнаружено присутствие на мембранах иммунореактивного ХГЧ. Существует два предположения относительно расположения ХГЧ на поверхности клеток. На мембрану просто попадает белок, синтезируемый клеткой, но возможно также, что ХГЧ связывается рецепторами, находящимися на мембранах секреторной клетки. Как бы то ни было, с нашей точки зрения, мембранное расположение ХГЧ на клетках представляет интерес. Это может повлиять на метаболические реакции в клетках. Эта локализация ХГЧ, возможно, защищает опухолевые клетки от отторжения их иммунной системой хозяина. Пока нет прямых указаний, поддерживающих мнение, что ХГЧ способствует росту опухолевых клеток. Однако можно допустить, что ХГЧ защищает опухолевоспецифические антигены от иммунной

системы хозяина благодаря тому, что он является «своим». Действительно, некоторые исследователи предполагали, что ХГЧ играет защитную роль для плода при беременности, так как служит молекулярным барьером, отделяющим фетоплацентарные ткани от материнских [Borland et al., 1975].

ПОСЛЕДСТВИЯ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ХГЧ

Можно предположить здесь три возможных последствия.

1. Антитела могут совершенно не влиять на скорость размножения и сохранения опухолевых клеток, продуцирующих ХГЧ.

2. Антитела могут быть цитотоксичны для клеток, особенно когда ХГЧ располагается на мембранах и когда комплексы антиген — антитело могут активировать комплемент.

3. Антитела могут усиливать рост опухоли, как это предполагается в некоторых других системах.

В литературе мало сообщений по этим вопросам. Currie (1967) доказал, что кроличьи антитела к ХГЧ цитотоксичны для монослойной культуры тканей — здорового и злокачественного трофобласта человека. Этот цитотоксический эффект зависел от присутствия комплемента. Цитотоксический эффект проявлялся быстро после добавления антител и выражался во втягивании цитоплазматических отростков, образовании пузырей на клеточной стенке, вакуолизации цитоплазмы и отделении клеток от поверхности стекла. Далее было показано, что клетки, отделенные антисыворотками от стекла, погибали, они поглощали лиссаминовый зеленый. Нормальные кроличьи сыворотки были также цитотоксичны для трофобластов, но в значительно меньшем разведении, чем сыворотки от иммунизированных кроликов. Bagshawe (1970) также наблюдал отделение клеток трофобласта, культивируемых *in vitro* в присутствии антител против ХГЧ, от поверхности стекла. Morisada с соавт. (1972) установили, что при культивировании человеческих трофобластов, взятых в начале беременности, в диффузионных камерах в брюшной полости кроликов, иммунизированных ХГЧ, избирательно повреждается синцитиотрофобласт при относительно меньших патологических изменениях цитотрофобласта. Цитотоксический эффект выражался в: 1) неровности синцитиотрофобласта; 2) очаговом некрозе, особенно на наружной поверхности; 3) пикнозе, кариорексисе и кариолизисе синцитиотрофобласта; 4) внутриклеточном отеке цитотрофобласта.

Мы наблюдали также, что антисыворотка, полученная на маках резуса или павианах путем иммунизации вакциной Оч-β-ХГЧ-СА, цитотоксична *in vitro* в присутствии комплемента для плацентарных ворсинок, взятых от животных на 7—8-й неделе беременности [Talwar et al., 1978]. Можно было наблюдать отек цитотрофобласта с отделением слоя синци-

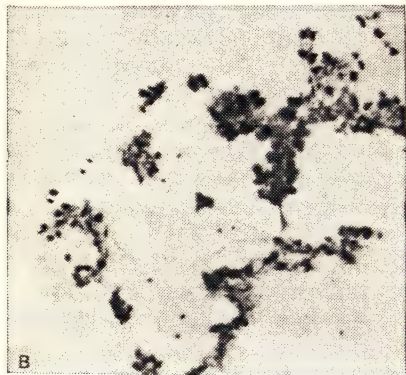
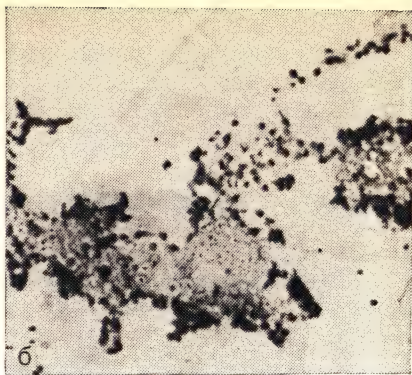
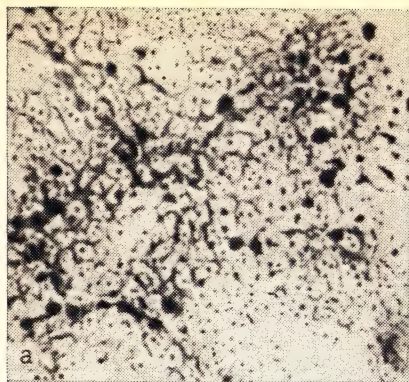


Рис. 37. Действие антител, генерированных вакциной Оч- β -ХГЧ-СА, на рост хориокарциномы клеточной линии BeWo, продуцирующей ХГЧ. а — клетки в 48-часовой культуре в среде F₁₀ с добавлением 10 % телячьей фетальной сыворотки, 10 % нормальной сыворотки крови обезьян и 5 % сыворотки морской свинки (которая служила источником компонента); б, в — культуральные пластинки (через 24 и 48 ч соответственно) тех же клеток, культивированных в такой же среде, за

исключением того, что вместо нормальной сыворотки крови обезьян в среду добавлялась сыворотка обезьян, иммунизированных Оч- β -ХГЧ-СА — вакциной, в такой же концентрации. Сыворотка имела титр антител против ХГЧ 1,2 мкг ХГЧ связывания/мл.

тиотрофобласта. В некоторых случаях можно было видеть также вакуоли внутри синцитиотрофобласта. Morisada с соавт. (1976) при электронно-микроскопическом исследовании подтвердили свои первые данные о цитотоксическом действии антител к ХГЧ на нормальные трофобласты *in vitro*. Первые цитопатические изменения наблюдались уже через 15 мин после начала инкубации с антителами к ХГЧ и в дальнейшем прогрессировали в течение инкубации. Ультраструктурные изменения включали увеличение количества жировых капель, расширение шероховатого эндоплазматического ретикулума, уменьшение количества митохондрий, частичное отделение наружной ядерной мембраны, набухание комплекса Гольджи и появление гигантских вакуолей внутри синцитиотрофобласта.

При пассажах человеческой хориокарциномы в защечные мешки хомяков Nosula, Kohler (1974) показали, что обра-

ботка антисывороткой к ХГЧ значительно уменьшала размеры опухоли по сравнению с животными контрольной группы. Однако антисыворотка к ХГЧ не влияла на рост клеток хориокарциномы *in vitro*. Если антитела к ХГЧ не могли подавлять размножение клеток *in vitro*, то, вероятно, это объяснялось отсутствием комплемента (или какого-то фактора реципиента), который, возможно, необходим для того, чтобы антитела действовали цитотоксически. В поставленных недавно экспериментах один из моих соавторов — Satish Kumar Gupta показал, что антитела, полученные к ХГЧ или вакцине Оч- β -ХГЧ-СА были цитотоксичны для монослойной культуры хориокарциномы BeWo (рис. 37). После контакта с антителами многие клетки приобретали округлую форму, цитоплазма их была вакуолизирована с пикнозом, а иногда с вытеснением ядра. Через 24 ч после инкубации с антителами 50—60 % клеток отделились от поверхности и плавали в среде. Через 48 ч после инкубации с антителами еще можно было наблюдать островки клеток, казавшихся неизмененными. Однако смена среды с антителами вела к дальнейшей дегенерации все большего числа островков. В параллельных опытах клетки BeWo, культивируемые в той же среде в присутствии нормальной сыворотки, росли нормально без заметных цитопатических изменений. Цитотоксическое действие антител к ХГЧ зависело от комплемента, в отсутствие комплемента антитела не оказывали эффекта. Эффект антител к ХГЧ гомоспецифичен для клеточной линии BeWo, вырабатывающей ХГЧ; те же сыворотки не были цитотоксичны для линии овариальных клеток, не синтезирующих ХГЧ.

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Наблюдения, сделанные независимо друг от друга рядом авторов, показывают, что антитела к ХГЧ оказывают цитотоксическое действие на клетки хориокарциномы и нормальные трофобласты *in vitro*. Недавние исследования (1980), проведенные Knecht и Gupta в нашей лаборатории, показали, что как активная, так и пассивная иммунизация хомяков против ХГЧ не подавляет роста хориокарциномы в их защитных мешках. Для того чтобы удостовериться в цитотоксическом эффекте, необходимы не только достаточные титры антител, но и присутствие комплемента. Таким образом, цитотоксичность, видимо, вызывается активацией комплемента комплексами антиген — антитело. Для того чтобы клетка была повреждена антителом и комплементом, необходимо, чтобы антиген-мишень находился на мембране и не кратковременно. Возможно, что антитела неэффективны в клетках, в которых антиген либо полностью находится внутри клетки, либо является секреторным белком, который остается на поверхности

клетки в течение очень короткого времени. Возможно, этим можно объяснить результаты, полученные Allen, Ledford (1977), обнаружившим цитотоксическое действие антител к α -фетопротеину на клетки гепатомы и отсутствие такого действия антител, полученных против другого белка, секретируемого клеткой, а именно мышинного сывороточного альбумина. Иммуноглобулины проникают не во все клетки. Однако трофобласты имеют рецепторы для IgG и в этих клетках антитела могут также оказывать и внутриклеточное действие. Повреждение, вызываемое комплексами антиген — антитело, может не быть губительным для клеток особенно устойчивых, например синцитиотрофобласта [Paul et al., 1979], или же клеток, в которых повреждение быстро ликвидируется. Таким образом, необходимо достаточно осторожно интерпретировать наблюдения, относящиеся к клеточной линии BeWo. Систематические исследования должны быть проведены и на других клетках, продуцирующих ХГЧ, для того чтобы доказать, могут ли антитела к ХГЧ действовать на все опухоли, образующие этот гормон.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abelev G. I. — In: *Advances in Cancer Research*, v. 14, p. 295. Edited by G. Klein, S. Weinhouse and A. Haddow, Academic Press. New York, 1971.
- Acevedo H. F., Slifkin M., Pouchet G. R. et al. — Abstracts of the XII Congreso Internacional del Cancer, Buenos Aires. Abstracta W 12/13, 1978.
- Allen R. O., Ledford B. E. — *Cancer Research*, 1977, v. 37, p. 696.
- Bagshawe K. D. — In: *The Biology and Surgery of Tissue Transplantation*, p. 139. Edited by E. J. Maxwell Anderson. Blackwell Scientific. Oxford and London, 1970.
- Borland R., Loke Y. W., Wilson D. — In: *Immunology of Trophoblast*, p. 151. Edited by R. G. Edwards, C. W. S. Howe and M. H. Johnson, Cambridge University Press, Cambridge, 1975.
- Braunstein G. D. — In: *Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility*, p. 389. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Inc. New York, 1979.
- Braunstein G. D., Rasor J., Adler D. et al. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1976, v. 126, p. 678.
- Braunstein G. D., Vaitukaitis J. L., Carbone P. P., Ross G. T. — *Annals of Internal Medicine*, 1973, v. 78, p. 39.
- Currie G. A. — *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1967, v. 74, p. 841.
- Dawood M. Y. — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1975, v. 123, p. 762.
- Dreskin R. B., Spicer S. S., Greene W. B. — *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1970, v. 18, p. 862.
- Gailani S., Chu T. M., Nussbaum A. et al. — *Cancer*, 1976, v. 38, p. 1684.
- Gold P., Shuster J., Freedman S. O. — *Cancer (Suppl.)*, 1978, v. 42(3), p. 1399.
- Gupta S. K., Buckshee K., Talwar G. P. (unpublished observations).
- Horne C. H. W., Reid I. N., Milne G. D. — *Lancet* ii, 1976, v. 279.
- Knecht M. — *Endocrinology*, 1980, v. 106, p. 150.
- Lange P. H., McIntire K. R., Waldmann T. et al. — *New England Journal of Medicine*, 1976, v. 295, p. 1237.

- McManus L. M., Naughton M. A., Martinez-Hernandez A.* — *Cancer Research*, 1976, v. 36, p. 3476.
- Morisada M., Yamaguchi H., Iizuka R.* — *International Journal of Fertility*, 1972, v. 17, p. 65.
- Morisada M., Yamaguchi H., Iizuka R.* — *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1976, v. 125, p. 3.
- Newlands E. S., Dent J., Kardana A.* et al. — *Lancet*, 1976, v. 744.
- Nisula B. C., Kohler P. O.* — *Cancer Research*, 1974, v. 34, p. 512.
- Paul S., Jaiikhani B. L., Gupta P. D., Talwar G. P.* — In: *Recent Advances in Reproduction and Regulation of Fertility*, p. 375. Edited by G. P. Talwar. Elsevier North-Holland Biomedical Press. Amsterdam and New York, 1979.
- Rosen S. W., Weintraub B. D., Vaitukaitis J. L.* et al. — *Annals of Internal Medicine*, 1975, v. 82, p. 71.
- Sheth N. A., Saruiya J. N., Ranadive K. J., Sheth A. R.* — *British Journal of Cancer*, 1974, v. 30, p. 566.
- Shuster J., Freedman S. O., Gold P.* — *American Journal of Clinical Pathology*, 1977, v. 68, p. 679.
- Slifkin M., Acevedo H. F., Pardo M.* et al. *Detection and Prevention of Cancer*, part 2, v. 1, p. 965. Edited by H. E. Nieburgs. Marcel Dekker Inc. New York, 1978.
- Talwar G. P., Ramakrishnan S., Das C.* et al. — *Proceedings 6th Asia Oceania Congress of Endocrinology (Singapore)*, 1978, v. 11, p. 472.
- Vaitukaitis J. L.* — *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 1974, v. 4, p. 276.

ГЛАВА 12

РИСК ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ РЕПРОДУКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ: ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Средства регуляции фертильности предназначены для молодых и здоровых супружеских пар. Применение их, непрерывное или периодическое, может продолжаться несколько лет и даже десятилетий. Из этого следует, что к средствам, применяемым для регуляции фертильности, должны предъявляться более строгие требования, чем к медикаментам, используемым для лечения больных.

Ряд контрацептивных средств уже находит широкое применение, следовательно, новые методы должны превосходить прежние. Задача исследователей должна заключаться в том, чтобы, по мере возможности, уменьшить всякие побочные действия новых контрацептивных средств.

Агенты, влияющие на репродукцию, могут вызвать еще одно последствие, о котором надо помнить и против которого надо принять меры. Кроме возможного токсичного действия агента на реципиента, следует учитывать его влияние на жизнь зарождающегося существа. Необходимо разработать соответствующие тесты, чтобы убедиться в отсутствии влияния агента на потомство.

Вследствие этого контрацептивные агенты следует относить к категории средств, отличающихся от обычных медикаментов, и необходимо проводить широкомасштабные и интенсивные исследования безопасности их применения.

В принципе иммунологические методы регуляции фертильности представляют собой новую область исследований, неизвестную в прошлом. Исторически вакцины появились для борьбы с патогенными организмами. Они были внедрены в клиническую практику в связи с угрозой эпидемий и стихийных бедствий. Не было сформулировано официальных правил их применения. В настоящее время от фармацевтических фирм требуется только обычная проверка стерильности препаратов и соответствия их спецификации. Совершенно иначе будет обстоять дело с антифертильными вакцинами. Вряд ли можно будет ожидать, что придется обратиться к эндогенным механизмам (иммунная система) в борьбе с эндогенным феноменом (репродукция). Таким образом, применение антифертильных вакцин вполне естественно вызывает опасения, хотя иногда и преувеличенные.

Несомненно, перед исследователями возникает ряд вопросов, в том числе следующие.

1. Каковы будут последствия индуцирования иммунного ответа на антиген репродуктивного тракта и как этот ответ повлияет на репродуктивные, эндокринные и другие функции?

2. Останется ли иммунный ответ четко ограниченным антигеном-мишенью? Если предложенная вакцина нарушит толерантность к нативному компоненту или к «своему» компоненту, то не может ли она вызвать другие формы аутоиммунных нарушений?

3. Не станет ли иммунная блокада необратимой, так как антиген время от времени будет поддерживать ответ?

4. Какими будут последствия образования иммунных комплексов циркулирующими антителами с антигеном-мишенью? Не смогут ли они привести к повреждению почек и другим нарушениям, обусловленным образованием иммунных комплексов.

5. Не вызовет ли применение активных и пассивных иммунологических средств нежелательных реакций повышенной чувствительности или аллергических?

6. Может ли случайное введение вакцины беременной или же беременность, наступившая в условиях слабого ниже порогового иммунного ответа, привести к осложнениям, например к нарушениям развития плода?

7. Будет ли иммунологическое ограничение фертильности функционально обратимым и восстановится ли нормальная фертильность после угасания иммунного ответа?

Большинство этих вопросов, если они будут четко сформулированы, поддаются экспериментальной проверке.

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Эксперты, занятые созданием новых медикаментов, очевидно, прежде всего должны провести те же исследования медикаментов на токсичность, которые применяются обычно к новой категории антифертильных вакцин. Однако, возможно, такой подход не вполне рационален. Когда мы имеем дело с обычными лебечными средствами, то лечебным агентом служит применяемое вещество или его производное, образующееся в организме вследствие его преобразования. При иммунологических методах эффективный агент это не то, что мы вводим, а то, что образуется в организме со временем в качестве реакции на введение, т. е. антитела и сенсibilизированные клетки. Было бы тщетно пытаться установить летальную дозу (LD_{50}) иммунного агента в отличие от обычных определений, проводимых для веществ, используемых в качестве медикаментов. Обычно для инъекций применяют иммуноген в малых дозах (несколько микрограммов, максимум миллиграмм). Возможно, что доза не связана непосредственно с числом образующихся антител. Одна и та же доза индуцирует антитела в различных титрах у разных людей; эффект зависит от антител и/или вызванного клеточного иммунитета, а не от первоначально введенного иммуногена. Необходимо помнить об этой особенности при планировании исследований безопасности иммунных средств. При использовании в исследованиях на животных иммуногена в различных дозах следует учитывать, что переменной величиной в достижении эффекта может быть не обязательно доза, а титр антител этих животных.

Надо помнить о том, что вакцина используется периодически. В большинстве случаев, определенное число инъекций (от одной до четырех) производится на протяжении нескольких месяцев, чтобы индуцировать иммунный ответ соответствующей продолжительности, тогда как противозачаточные таблетки применяются постоянно. Таким образом, схема испытания токсичности должна быть совершенно иной.

ВИДЫ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЙ

Большинство испытаний фармацевтических средств предполагает проведение экспериментов на животных трех видов, отобранных среди мышей, крыс, морских свинок, кроликов, собак, макаков резусов и т. д. Конечно, рекомендуется включить в их число какой-либо вид приматов, так как по своим метаболическим процессам они сходны с человеком. Однако токсикологические исследования на приматах часто стоят очень дорого. Приматов, особенно обезьян, организм которых наиболее схож с человеческим, не везде можно получить для

опытов. Таким образом, необходимо беспристрастно решить, обязательно ли изучать безопасность действия данной вакцины на приматах. Надо решить также вопрос о том, какой вид приматов надо использовать, чтобы получить действительно верное решение. Иногда возникают особые обстоятельства, не относящиеся к строго научным. Так, например, мы можем сослаться на инструкции, опубликованные руководящим комитетом ВОЗ, по иммунологическим методам регуляции фертильности (1978); в этих инструкциях рекомендуется изучать безопасность вакцин против ХГЧ на павианах. Однако это вряд ли лучший объект для таких исследований. Согласно мнению Chen, Hodgen (1976), антисыворотка против С-терминального пептида β -ХГЧ не вступает в перекрестную реакцию с хориогонадотропином павианов. В свете этих сообщений можно высказать сомнение в целесообразности их использования для испытания вакцины, основанной на С-терминальном фрагменте ХГЧ.

НЕОБХОДИМОСТЬ В РАЗРАБОТКЕ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

Строго говоря, правила, относящиеся к применению медикаментов, требуют, чтобы изучалась безопасность всего состава средства, предназначенного для применения у человека. Какая-либо замена даже одного компонента или исключение его из состава препарата не дает возможности экстраполировать полученные результаты. Если согласиться с этим условием, как и должно быть, то, очевидно, надо изучать безопасность применения вещества в том составе, который в дальнейшем намечено использовать у человека. При испытании антифертильных вакцин должны исследоваться антиген (антигены), нередко человеческого происхождения вместе с носителями и адъювантами, совместимыми с требованиями безопасности, или без них. При проведении подобных исследований может возникнуть препятствие. Антитела, выработанные к человеческим антигенам, будут полностью реагировать только на человеческие белки. У экспериментальных животных реакция будет неполная, она будет зависеть от того, насколько человеческий белок близок к аналогичному белку экспериментального животного. Полученные данные не обязательно будут полностью отражать всю существующую опасность от применения вакцины. Изучение окончательного состава вакцины обязательно согласно основному принципу определения безопасности их использования. Но это изучение можно с успехом дополнить экспериментами на модельных системах. Так, например, в подобных экспериментах можно изучить на макаках резуса влияние иммунных комплексов, образуемых циркулирующими антителами против ХГЧ с гормоном, который, очевидно, должен вырабатываться в ранних стадиях

беременности. Животных можно иммунизировать какой-либо вакциной, например Оч- β -ХГЧ-СА, вызывающей образование антител к ХГЧ. При соответствующих титрах циркулирующих антител животному можно ввести в известных дозах гомологичный гормон, т. е. ХГЧ, и, таким образом, вызвать образование комплексов ХГЧ — анти-ХГЧ. Таким образом, обезьяна может служить как бы «пробиркой» *in vivo* для проверки отложения комплексов того типа, который должен появляться в начале беременности у женщин, иммунизированных вакциной против ХГЧ. Эта наглядная система успешно применялась в изучении данного вопроса [Ramakrishnan et al., 1978; Gupta et al., 1978; Nath et al., 1976].

Можно представить себе другую модельную систему для исследования действия антител, перекрестно реагирующих с гипофизарными гормонами. Можно взять животное какого-либо доступного вида и иммунизировать таким гормоном, как овечий ЛГ, индуцирующий антитела, которые перекрестно реагируют с гипофизарным ЛГ ряда обычных лабораторных животных, а также приматов. Для того чтобы установить, какова возможная максимальная опасность антител и сенсибилизированных клеток, реагирующих с нативным гонадотропином, можно использовать животных, получивших антиген как в умеренной дозе, так и в повышенной. Эти исследования с использованием хорошо продуманных гетерологичных систем могут помочь установить степень риска, а также рассеять возможные опасения тяжелых последствий путем фактической проверки гипотезы.

Здесь может возникнуть еще один дополнительный вопрос, а именно каковы могут быть последствия ауто- и изоиммунизации против «нативного» гормона. Что произойдет с секреторными клетками, а также с клетками-мишенями, которые иногда находятся в нескольких органах? Подобные вопросы можно также решить при помощи исследований на модельных экспериментальных системах. Например, можно избрать для таких исследований пептидный гормон, такой как РГ-ЛГ. По своей первичной структуре и биологическим свойствам этот пептид практически одинаков у многих видов животных — от мышей до человека. Эту особенность можно использовать для того, чтобы осуществить целенаправленные исследования на достаточном числе легкодоступных лабораторных животных, например грызунах. Данные, полученные при помощи широкомасштабных экспериментов на этих особях, которые стоят недорого, можно проверить при необходимости проведением аналогичных экспериментов на отдельных животных какого-либо вида приматов. Иммунизация против РГ-ЛГ может выявить возможные патологические изменения, вызываемые ауто- и изоиммунизацией в продуцирующих клетках (т. е. гипоталамусе), в органах-мишенях (т. е. гипофизе) и во вторичном органе-мишени (т. е. гонаде).

В идеале для создания антифертильных вакцин следует применять те вакцины, которые могут индуцировать образование антител и клеточный иммунитет исключительно против критического белка, необходимого для репродуктивных функций. Антитела должны быть лишены способности реагировать с другими тканями и секреторными белками. Вопрос о том, насколько все возможные антигены для антифертильных вакцин отвечают этому критерию, остается открытым. Если пользоваться усовершенствованной методикой и высокочувствительными пробами, то мы убедимся, что белки, ранее считавшиеся специфичными для данной ткани, содержатся не только в ее клетках. Рассмотрим конкретный пример, а именно ХГЧ. В течение десятилетий основной диагностики беременности было появление этого гормона в крови и моче; таким образом, существовала концепция, что этот гормон синтезируется и секретируется только трофобластами, появляющимися в результате зачатия. При помощи методов концентрирования и радиоиммуноанализов, способных выявить этот гормон в количестве нескольких нанограммов, было установлено, что он вырабатывается нормальными тканями как у мужчин, так и у небеременных женщин, хотя и в очень малых количествах (см. литературные источники к главе 10). Полагают, что этот гормон вырабатывается даже в гипофизе. Это пример компонента, который до последнего времени считался специфичным для плаценты, но теперь уже не может рассматриваться как таковой. Из этого примера можно сделать вывод, что специфичность надо рассматривать не как абсолютное понятие, а как относительное. Гены, детерминирующие эмбриональные белки, могут быть не полностью включены в зрелых дифференцированных клетках, и может сохраниться синтез различных типов белков на низком уровне. Ткани можно отличать друг от друга по основным белкам и ферментам, которые в них вырабатываются, но все же они могут сохранить способность продуцировать в очень малых количествах другие белки, характерные для полипотентных эмбриональных клеток, из которых эти ткани развились.

В докладе ВОЗ (1978) большое внимание уделялось использованию С-терминальных фрагментов β -ХГЧ в качестве иммуногена для того, чтобы вызвать ответ против ХГЧ. Но доводы были недостаточно обоснованы. Поскольку доказано, что ХГЧ вырабатывается в других тканях [Chen et al., 1976; Yoshimoto et al., 1977], нельзя утверждать, что С-терминальные фрагменты β -ХГЧ или какого-либо другого иммуногена, индуцирующего антитела к ХГЧ, лишены способности реагировать с продуктами других тканей.

Таким образом, если критерием служит абсолютная специфичность, то вакцина, основанная на С-терминальном

фрагменте β -ХГЧ, не будет удовлетворять этому требованию.

Биологическая функция белков, которые вырабатываются клетками в ультранизких количествах, не ясна, и не ясно, к чему может привести иммунизация против них. Очевидно, нам чаще придется иметь дело с относительной, а не абсолютной тканевой специфичностью у антигенов, применяемых в качестве вакцин. Возможно, что важными факторами, влияющими на риск иммунизации вакцинами, на практике окажутся локализация этих антигенов, т. е. местоположение их на мембранах или внутри клетки, и доступность их для реакции с циркулирующими антителами и сенсибилизированными клетками, хотя это и не предполагается теоретически.

РЕКОМЕНДАЦИИ

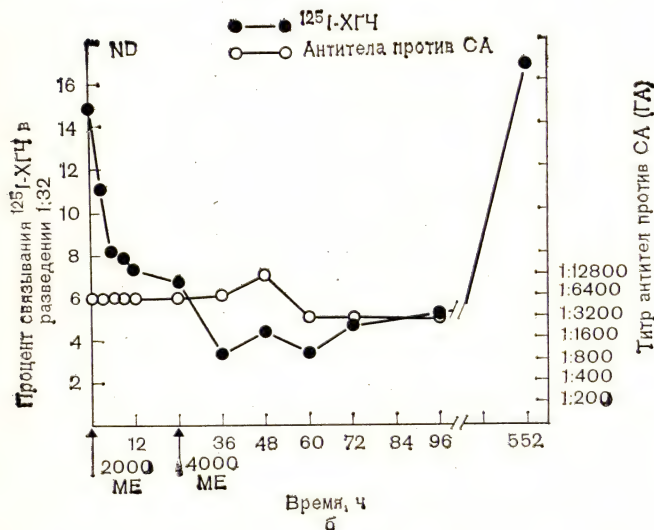
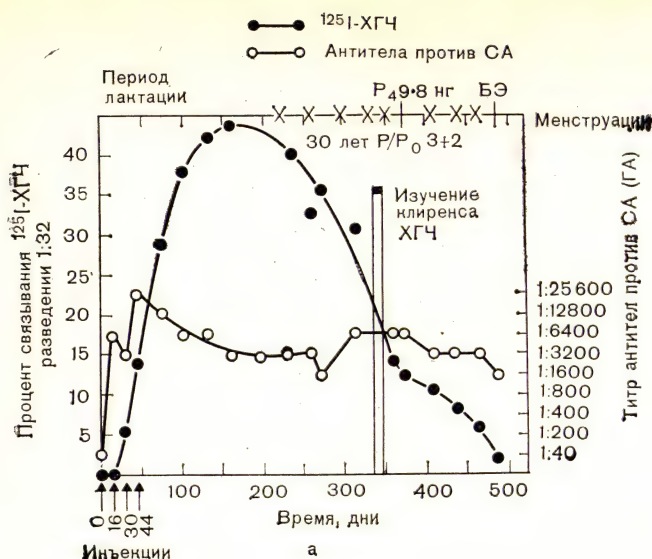
Насколько нам известно, ни одно из национальных фармацевтических агентств пока еще не сформулировало официальных инструкций, хотя Агентство по медикаментам и пищевым продуктам США и правительство Индии назначили Комитеты экспертов; так же поступил Индийский Совет медицинских исследований, а возможно, и организации, занимающиеся регуляцией и научными исследованиями в фармацевтической промышленности в других странах.

Специальная группа ВОЗ по иммунологическим методам регуляции фертильности недавно опубликовала проект доклада на эту тему после консультации с экспертами соответствующих областей науки и фармацевтическими ведомствами трех стран (ВОЗ, 1978). Во вступительном абзаце указано, что этот доклад «не предназначен быть окончательным ответом на весьма сложную проблему. Скорее авторы надеются, что публикация этого доклада будет способствовать рассмотрению критериев безопасности широкой научной общественностью и приведет к формулированию определенных руководящих указаний, которые должны послужить основой для исследований безопасности».

Этот доклад заслуживает похвального отзыва во многих отношениях. В нем поднимается ряд важных вопросов, связанных с испытанием безопасности антифертильных вакцин. Он служит очень хорошей основой для формулировки руководящих указаний относительно такой вакцины. Ценность этого документа несколько снижается из-за ограниченности направления исследований.

Для каждой вакцины в зависимости от ее предназначения должны быть разработаны схемы испытаний безопасности ее использования.

После того как действенность вакцины будет доказана на соответствующем виде экспериментальных животных, требуется определить минимальный порог антител, необходимый для ее эффективности. Этот параметр более важен и более



показателен, чем ЛД₅₀, обычно определяемая для медикаментов. Исследования безопасности применения вакцины можно запланировать, учитывая три разных уровня титров антител: 1) уровень иммунизации, едва достаточный для эффективности; 2) уровень иммунизации, при которой титры антител от 2 до 4 раз выше минимально необходимого; 3) повышенный уровень для животных. Короче говоря, животных

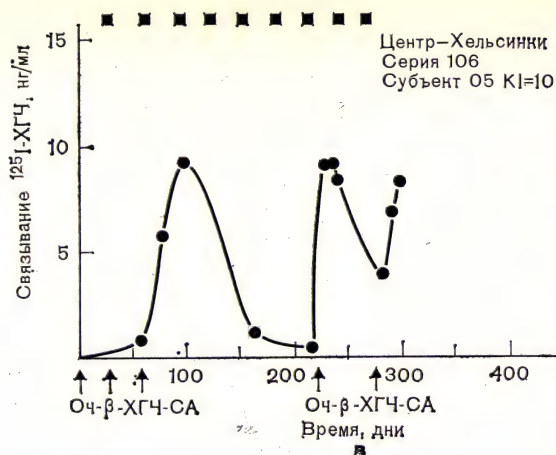


Рис. 38. Кинетика антителного ответа у человека, иммунизированного вакциной Оч-β-ХГЧ-СА (4 инъекции по 80 мкг-экв β-ХГЧ через каждые 2 нед). Титры антител к ХГЧ стабилизировались примерно через 5 мес, а через 16 мес после начала иммунизации снизились почти до нуля, что говорило об обратимости гуморального иммунного ответа. а — фаза спада титра (11½ мес). Проведено исследование клиренса ХГЧ. Были введены 2 дозы ХГЧ (2000 МЕ, а затем через сутки еще 4000 МЕ), что привело к резкому падению титров антител, следовательно, антитела были израсходованы на связывание вводимого гормона. б — ХГЧ сам по себе не поддерживал титров, которые вернулись к исходному уровню через 23 дня (а, б). Однако если ввести Оч-β-ХГЧ-СА вместо ХГЧ, то титры антител к ХГЧ повышаются без задержки во времени (в) [данные частично заимствованы у Talwar et al., 1976].

надо разделять на группы не на основании дозы вакцины, а на основании титров антител и вызванного клеточного иммунитета.

Очевидно, следует изучать влияние иммунизации на различные функции организма. К ним должны относиться: 1) функции репродуктивного тракта (менструальные циклы и кровотечения, концентрация гормонов, либидо и т. д.); 2) функции других эндокринных желез (щитовидная железа, надпочечники, гипофиз и т. д.); 3) метаболические процессы (глюкоза, холестерин, концентрация липидов, белков и т. д.); 4) кроветворная система (полный анализ крови); 5) функции других органов, в частности печени, почек и сердечно-сосудистой системы.

Лучше всего проводить исследования на животных такого вида, у которых вакцина эффективно контролирует фертильность.

Можно разделить животных на две группы: в первой группе применяется вакцина на протяжении всего первичного иммунного ответа, а во второй предусматривается период применения вторичной, поддерживающей иммунизации.

Еще в одну группу можно отнести животных, получающих повторные поддерживающие инъекции с тем, чтобы иммунный ответ продолжался в течение 2—5 лет. В каждой группе можно выделить животных с минимальным, средним (умеренным) и гипериммунным ответом. Необходимо делать вскрытие у достаточного числа животных каждой группы. Внутренние органы следует исследовать макро- и микроскопическими методами. При помощи электронной микроскопии и методов иммуофлюоресценции можно искать отложения иммунных комплексов на криостатных срезах тех органов, где возможно иммунологическое повреждение (т. е. почек, эндокринных органов и тканей, богатых капиллярной сетью, например сосудистое сплетение). Сыворотки всех иммунизированных животных должны быть исследованы на реактивность с тканями человека, а также на ревматоидный фактор, анти-ДНК и антимикросомальную активность.

Необходимо тщательно регистрировать местные реакции в месте инъекции во время первичной и вторичной иммунизации, а также частоту повышенной чувствительности, реакции Артюса и анафилаксии и принимать соответствующие меры предосторожности при помощи пробных тестов.

Согласно принципам, которые были рассмотрены выше в этой главе, можно разработать модельные системы, чтобы установить максимально возможный риск иммунизации данной вакциной.

Необходимо определять продолжительность иммунного ответа и устанавливать, обратим ли он. Надо изучить вопрос о возможности поддерживающего действия того эндогенного антигена репродуктивного тракта, против которого направлена вакцина. Эксперименты с его введением извне помогут установить способность антител ликвидировать предполагаемый антиген и инактивировать его биологическое действие. Если антиген как таковой вызывает подкрепление (усиление) иммунного ответа, то очевидно, что иммунизация может привести к последовательному нарастанию и необратимому блокированию фертильности. Во многих вакцинах сам нативный белок может не быть иммуногенным, и для того, чтобы он вызывал иммунизацию, его необходимо соединить с носителем или модифицировать с помощью гаптена.

На рис. 38 демонстрируются результаты опытов с выведением из организма ХГЧ. Эксперименты с провоцирующими инъекциями могут также помочь определить величину и тип иммунных комплексов, образованных антителами с антигеном-мишенью. На рис. 39 приведена ценная информация о свойствах антител, индуцируемых всей субъединицей гормона или его фрагментом.

Если повторные инъекции антигена будут сделаны до вскрытия, то мы получим систему, позволяющую определить

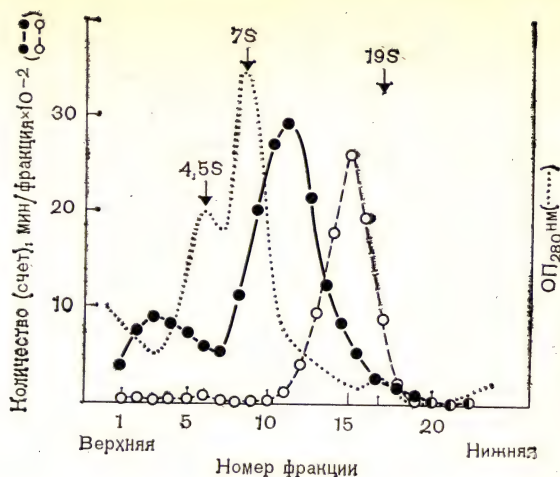


Рис. 39. Профили седиментации иммунных комплексов, образуемых антителами к Оч-β-ХГЧ-СА и антителами против синтетического С-концевого пептида, включающего 45 аминокислот (45-СКП). Антисыворотки инкубировались с ^{125}I -ХГЧ (20 000 имп/мин) в течение 4 ч при комнатной температуре и 17 ч при 4 °С. Смесь центрифугировалась на градиентах плотности сахарозы (5—40 %) в течение 18 ч при 105 000 g. Кривая, обозначенная точками, — локализация меченых белков, установленная при постоянном наблюдении поглощения фракции при 280 нм; сплошная кривая с черными кружками — радиоактивность, обусловленная присутствием в комплексе ^{125}I -ХГЧ после инкубации с антисывороткой к 45-СКП; прерывистая кривая с белыми кружками — радиоактивность ^{125}I -ХГЧ после инкубации с антисывороткой Оч-β-ХГЧ-СА. Следует обратить внимание на небольшой пик свободного ХГЧ в первой инкубации и полное связывание гормона антисывороткой к Оч-β-ХГЧ-СА. Вычислено, что константа седиментации комплекса ХГЧ с антителами к 45-СКП равна 10 S, тогда как для комплекса ХГЧ с антителами к Оч-β-ХГЧ-СА она равна 17 S. В первом случае на молекуле гормона имеется в среднем один рецептор, связывающий антитела, тогда как антитела второго типа должны быть поливалентны и иметь в среднем 3 связывающих рецептора на гормоне.

риск образования иммунных комплексов при применении данной вакцины.

Восстановление фертильности после спада иммунного ответа, а также состояние потомства, рождающегося в этих условиях, можно изучать путем длительного наблюдения за экспериментальными животными.

Эти рекомендации не носят окончательного характера и не являются официальными. Мы предлагаем их на тех же основаниях, что и рекомендации, сделанные в докладе Специальной группы ВОЗ, а именно для того, чтобы вызвать дискуссию по вопросу о разработке рациональных и практически удобных схем оценки безопасности применения различных методов иммунизации.

В этой главе я хочу подчеркнуть, что на практике вполне возможно тщательное изучение антифертильных вакцин при помощи правильно запланированных экспериментов, на соответствующих модельных системах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Chen H. C., Hodgen G. D.* — Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1976, v. 43, p. 1414.
- Chen H. C., Hodgen G. D., Matsuura L. J. et al.* — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1976, v 73, p. 2885.
- Gupta P. D., Nath I., Talwar G. P.* — Contraception, 1978, v. 18, p. 91.
- Nath I., Gupta P. D., Bhuyan U. N., Talwar G. P.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 213.
- Ramakrishnan S., Das C., Dubey S. K. et al.* — Journal of Reproduction and Immunology, 1979, v. 1, p. 243.
- Ramakrishnan S., Das C., Talwar G. P.* — Contraception, 1978, v. 18, p. 71.
- Ramakrishnan S., Dubey S. K., Das C. et al.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 245.
- Talwar G. P., Dubey S. K., Salahuddin M. et al.* — Contraception, 1976, v. 13, p. 237.
- WHO Steering Committee on Immunological Methods for Fertility Regulation.* — Clinical and Experimental Immunology, 1978, v. 33, p. 360.
- Yoshimoto Y., Nolfen A. A., Odell W. D.* — Science, 1977, v. 197, p. 575.

ГЛАВА 13

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ РЕГУЛЯЦИИ ФЕРТИЛЬНОСТИ В ВЕТЕРИНАРИИ

Успешное исследование различных антифертильных вакцин неизбежно приведет к тому, что они впервые будут применены у домашних и сельскохозяйственных животных. Таким образом, мы получим хороший материал для испытания эффективности и безопасности специфических иммунологических методов и с большей уверенностью приступим к использованию их у человека.

Подсчитано, что только в Канаде и США насчитывается более 68 млн. домашних животных. В Европе и других странах мира широко распространено содержание собак и кошек. У этих животных примерно 2 раза в год наступает течка, в течение которой самка привлекает к себе самца, чем доставляет множество хлопот своим владельцам, особенно если потомство нежелательно. В экономически малоразвитых странах свободное размножение бродячих животных наносит ущерб в использовании пищевых продуктов и является причиной распространения различных заболеваний, например бешенства. Иммунологические средства могут помочь регулировать половое поведение таких животных. Благодаря тому что практическое применение этих методов относительно не-

сложное и обходится недорого, они, возможно, могут с успехом применяться, как и хирургическая кастрация.

Иммунологические методы, очевидно, могут быть применены также в животноводстве и у сельскохозяйственных животных. Искусственное осеменение оправдало себя, так как позволило улучшить породы молочного скота и животных, выращиваемых для получения мяса. Успех осеменения в большой мере зависит от точной диагностики течки у самок. У самок таких животных, как буйволы, период течки бывает скрытым и обычно определяется только тогда, когда к самке подпускается самец. В настоящее время буйволов кастрируют, чтобы они не осеменяли буйволиц. Хирургическая кастрация часто ведет к потере либидо, что в какой-то мере обесмысливает использование таких бычков в качестве раздражителей. В этой связи может быть с успехом использован иммунологический метод, благодаря которому у самца данного вида может не быть спермы без потери андрогенов и либидо.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИММУНИЗАЦИИ САМЦОВ

У многих видов животных сперматогенез начинается в постнатальном периоде, тогда как структура семенников в основном формируется в эмбриональной жизни. Иммунная система распознает эти основные элементы семенников как нечто «свое», однако макромолекула(ы), появляющаяся с началом сперматогенеза, в дальнейшем распознается иммунной системой как «чужое», особенно в отношении веществ, которые отличаются от компонентов, содержащихся в других тканях.

Таким образом, иммунной системе присуща способность реагировать против «чужого» компонента(ов) сперматозоидов, появляющегося в отдаленные сроки. Эту способность можно использовать для того, чтобы вызвать избирательный иммунный ответ, открыв доступ лимфоидным клеткам к аппарату семенников. Для этого можно применять различные методы. Инъекция экстрактов семенников или очищенных антигенов с ПАФ вызывала аутоиммунный асперматогенный орхит. Основополагающие исследования Freund с соавт., Voisin с соавт., Katsh с соавт., Mancini с соавт. и других ученых обсуждались в главе 9. Для достижения асперматогенеза необходим как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Мы убедились, что инъекция в семенники БЦЖ также может привести к асперматогенезу.

В течение десятилетий в качестве вакцины для иммунопрофилактики туберкулеза применялись ослабленные микобактерии (БЦЖ). Эту вакцину вводили миллионам (или даже миллиардам) людей в различных странах мира, и опыт доказал целесообразность этого, а также выявил и недочеты. Никаких серьезных противопоказаний для введения вакцины не описано. В некоторых странах, например Уганде (но не

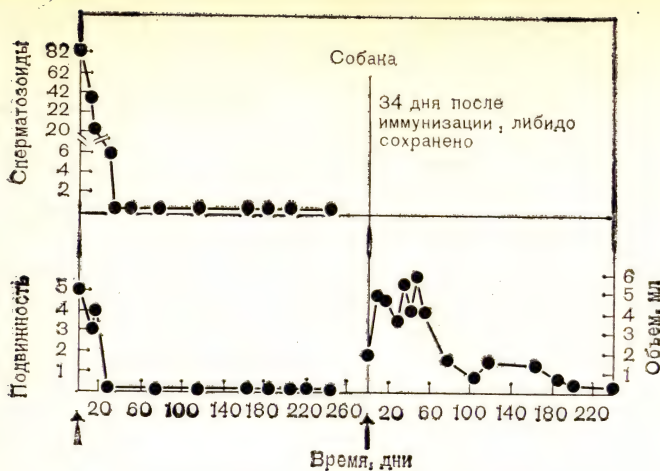


Рис. 40. Как вызвать азооспермию в семени собак. Время иммунизации указано стрелками (данные и детали эксперимента см.: Talwar et al., 1979). Собака была иммунизирована путем введения в семенник БЦЖ. Через 3—4 нед число и подвижность сперматозоидов упали почти до нуля и поддерживались на этом уровне в течение 8 мес наблюдения. Однако совокупление не приводило к зачатию.

в Бирме), она оказалась полезной в борьбе с проказой. В последнее время БЦЖ успешно использовалась также для иммунотерапии рака.

С интересующей нас точки зрения, следует отметить, что ослабленные микобактерии оказывают сильное адьювантное действие и могут вызывать местную инфильтрацию лейкоцитами; таким образом, клетки лимфоидного происхождения привлекаются к тому очагу, где мы хотим вызвать аутоиммунную реакцию. Иммунные свойства БЦЖ имеют также и дополнительные преимущества.

При введении в семенники БЦЖ вызывает асперматогенез у ряда исследованных к настоящему времени видов животных. К ним относятся крысы, морские свинки, кролики, бараны, собаки, макаки резус и павианы. Во всех случаях для желаемого эффекта было достаточно однократной инъекции. Эффективная доза различна у разных видов в зависимости от размеров семенников. Однако во всех случаях можно было применить один и тот же агент. Он действовал довольно быстро и эякуляты через 4—6 нед после иммунизации почти полностью были лишены подвижных живых сперматозоидов (рис. 40). Животные сохраняли нормальное либидо и реагировали на самок в течке. Уровень тестостерона в крови не снижался, и животные реагировали на гонадотропную стимуляцию образованием тестостерона; таким образом, функция клеток Лейдига, видимо, была в норме. Большое до-

стоинство этого метода заключается в том, что он эффективен почти у 100 % реципиентов в отличие от изоиммунизации, при которой отмечается широкая индивидуальная вариабельность антительного ответа.

При исследовании серийных срезов семенников можно было наблюдать частичную или полную атрофию почти 90—95 % канальцев. Однако базальная мембрана оставалась интактной и околоканальцевые клетки были без нарушений. Клетки Сертоли имели нормальные ядра, но цитоплазма была вакуолизирована и повреждена в той или иной степени в разных канальцах. Развитие зародышевых клеток заканчивалось на разных стадиях, но не позднее вторичных сперматоцитов. Канальцы почти не содержали сформированных сперматозоидов, и в них всегда присутствовал эозинофильный детрит. В интерстициальных пространствах была ясно выражена лейкоцитарная инфильтрация, но клетки Лейдига были, видимо, без отклонений. Трудно сказать, увеличилось ли их количество. По-видимому, уменьшения их численности, размера и функции не наблюдалось.

Подавление сперматогенеза продолжалось долго у исследованных к настоящему времени видов животных, особенно после введения БЦЖ в больших дозах. При высоких дозах лейкоцитарная инфильтрация может привести к широко распространенным повреждениям канальцев с неспецифическим нарушением их архитектоники. Таким образом, этот метод может быть использован в такой форме, что стерилизация животных станет почти необратимой. Однако при использовании низких или умеренных доз повреждение будет избирательным и выразится только в блокаде генерации спермы без нарушения цитоархитектоники семенников. В этих случаях (при низких или умеренных дозах) результат данного метода обратим. У животных некоторых видов со временем бациллы ликвидируются и вследствие эндогенных процессов происходит регенерация и восстановление поврежденных тканей. У животных, у которых микобактерии не ликвидируются в результате эндогенных процессов, можно применить такие антимикобактериальные медикаменты, как изониазид, ПАСК, стрептомицин, рифамицин и т. д., чтобы освободить ткани от бацилл. Восстановление сперматогенеза означает восстановление плодовитости. Пользуясь убитыми микобактериями, можно также вызвать обратимую блокаду сперматогенеза. Дозы, необходимые для этого, будут отличаться от доз, применяемых в тех случаях, когда использовались живые ослабленные бациллы.

Таким образом, БЦЖ при внутритестикулярном введении может приводить как к обратимой, так и к почти необратимой стерилизации самцов. Метод этот пригоден для собак [Naz, Talwar, 1980] и может помочь ограничить численность бездомных животных, а также использоваться ветеринарами

вместо хирургической кастрации. У сельскохозяйственных животных метод может найти потенциальное применение у стадных животных для выявления самок в состоянии течки. Этот метод эффективен почти в 100 % случаев.

КОНТРОЛЬ ПЛОДОВИТОСТИ И ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ У САМОК ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

В этом разделе речь пойдет о самках собак, однако наши замечания относятся ко всем видам животных с сходной физиологией.

У самок течка наступает дважды в год. В течение этого периода к ней сбегается самцы. Они воспринимают обонятельный сигнал, который передается продуктами организма самки, вырабатываемыми под гормональным влиянием. Химическая структура феромона (феромонов) самок не установлена. Видимо, они вырабатываются под контролем эстрогенных гормонов; синтетические эстрогены, если ввести их самкам в период отсутствия естественной течки, могут сообщить ей свойства, притягивающие самцов. Возможно, что за синтез или секрецию феромонов ответственны овариальные гормоны, но сама выработка эстрогенов в яичниках находится под контролем гипофизарных гонадотропинов. Выделение гипофизарных гонадотропинов регулируется гипоталамическим релизинг-фактором (факторами) (рис. 41). Таким образом, иммунное воздействие возможно на любом из звеньев цепи, в результате чего будет предупреждена течка. Овуляция также зависит от созревания фолликулов и отделения зрелых яйцеклеток (овуляции) под влиянием гонадотропина.

Теоретически можно предложить следующие типы вакцин, подавляющих течку:

- 1) против РГ-ЛГ;
- 2) против гонадотропинов;
- 3) против эстрогенов.

Релизинг-гормон лютеинизирующего гормона (РГ-ЛГ) является декапептидом, который нетрудно синтезировать и приобрести по коммерческим каналам в больших количествах за умеренную цену. Надо полагать, что, когда будет усовершенствована техника синтеза пептида, его стоимость еще больше снизится. Декапептид можно соединить с белком-носителем при помощи бифункциональных конденсирующих агентов, как например, 1-этил-3(3-диметиламинопропил)карбодиимид-гидрохлорид. Сам пептид является слабым иммуногеном, но его действие усиливается при соединении с соответствующим белком-носителем, например со столбнячным анатоксином или гемоцианином моллюска. Его можно соединить также с вакциной, которая вообще используется для прививок собак, например против бешенства. Конъюгированная вакцина, содержащая соответствующий допустимый адъювант,

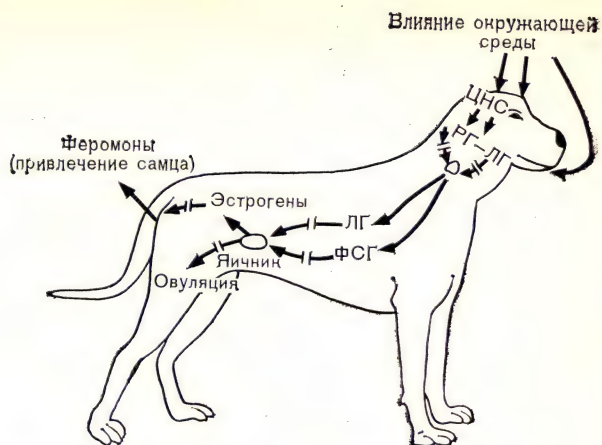


Рис. 41. Возможные места иммунологических воздействий, предупреждающих течку у собак.

вызывает образование антител к РГ-ЛГ. В активной фазе синтеза антител подавляется функция репродуктивных органов. Антительный ответ имеет определенную продолжительность; когда титры антител снижаются, у животных восстанавливаются репродуктивные функции.

По нашему мнению, предпочтительно воздействие на второе звено, а именно блокирование эстрогенных гормонов, с целью предупреждения выработки феромонов и, таким образом, избежания привлечения самцов. Эстрадиол можно конъюгировать с совместимым иммуногенным носителем через мостик, вставленный в позиции 6 или 17 молекулы гормона. Специфичность получаемых антител будет зависеть от позиции, где проведена конъюгация. Циркулирующие антиэстрогенные антитела подавляют образование феромонов у самок.

БЫСТРОДЕЙСТВУЮЩИЕ МЕТОДЫ

Активная иммунизация требует определенного времени для формирования антительного ответа, особенно если она производится впервые. Вместе с тем может потребоваться быстрое вмешательство, для того чтобы устранить начальные проявления течки. Каковы же возможные альтернативы и как можно определить период, пока не наступит антительный ответ?

Ввиду того что эстрогены являются активными компонентами, индуцирующими синтез феромонов, можно применить антиэстрогенные вещества быстрого действия, чтобы подавить эстрогенную активность. Эти вещества можно изготавливать в виде таблеток с таким носителем, как холестерин. Таблетки

можно ввести под кожу. Они будут спонтанно рассасываться, и их не нужно будет удалять, в отличие от тех случаев, когда стероиды имплантируют в силистике.

Быстродействующий иммунологический метод может заключаться во введении уже готовых иммуноглобулинов, содержащих соответствующие антигормональные антитела. При этом блокируется гормон(ы) из списка, приведенного на рис. 41, в зависимости от времени вмешательства. Иммуноглобулины для инъекции необходимо получать у того вида, у которого предполагается проведение иммунотерапии. Для подавления течки у самок необходимо гипериммунизировать собак, чтобы получить сильные антитела против гормона-мишени. Эффект введения антител будет иметь определенную продолжительность, а именно будет подавлена ближайшая течка, а в следующем цикле течка наступит вовремя. Эффект этот надежен и наступает быстро. При активной иммунизации эффективность зависит от наличия адекватных титров антител. Ввиду индивидуальной вариабельности иммунного ответа нельзя обеспечить эффект у всех иммунизированных животных. Напротив, при пассивной иммунизации можно ввести животному необходимое количество готовых антител.

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Выше были перечислены лишь немногие из возможных иммунологических методов, которые можно применить в ветеринарии и животноводстве. Они не требуют особой хирургической квалификации и сложной асептики. Помимо применения в ветеринарной практике, широкое использование этих средств может выявить безопасность или, напротив, риск их назначения для регуляции фертильности. Если побочные явления, возникающие при применении иммунологических методов у миллионов животных, не будут более выражены, чем осложнения существующих контрацептивных методов, то, очевидно, перед нами откроются широкие перспективы для их клинического применения при регуляции фертильности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Naz R. K., Talwar G. P.* — International Journal of Andrology (in press), 1980.
Talwar G. P., Naz R. K., Das C., Das R. P. — Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), 1979, v. 76, p. 5882.

ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ О ПРИМЕНЕНИИ АНТИФЕРТИЛЬНЫХ ВАКЦИН И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Иммунологические эксперименты, относящиеся к антигенам репродуктивной системы, были начаты в 1899 г., когда два выдающихся иммунолога Landsteiner, Metchnikoff независимо друг от друга получили антитела, цитотоксические для сперматозоидов животных других видов. В течение следующих 55 лет на различные темы, связанные с этим вопросом, было опубликовано более 200 работ. Роль этих исследований оказалась не слишком существенной отчасти потому, что мало известно было об иммунной системе, структуре и химическом составе веществ, важных для фертильности. На протяжении последних 25 лет в обеих этих областях были достигнуты существенные успехи. Анатомия и биология иммунной системы теперь лучше изучены. Мы больше знаем о типах и подклассах клеток, участвующих в клеточном и гуморальном иммунитете, их взаимодействии, хотя остается выяснить еще многое о тонких механизмах и о регуляции иммунного ответа. Установлены структура и свойства различных классов и подклассов иммуноглобулинов. Одновременно значительные достижения были сделаны в области изучения химии белков. Были разработаны методы ультраочистения и изучения макромолекул. Была установлена первичная структура гормонов, участвующих в репродуктивных процессах, и теперь мы располагаем методами их лабораторного синтеза. В результате исследований были точнее изучены некоторые репродуктивные процессы. Таким образом, в настоящее время есть все условия для целенаправленных исследований, которые должны привести к созданию иммунологических методов регуляции фертильности. Наряду с этим необходимо также признать, что механизм индукции иммунного ответа все еще отчасти остается недостаточно изученным, хотя продукты, вырабатываемые активированными антителообразующими клетками, представляют собой молекулы с известным строением. Необходимо продолжать исследования для того, чтобы можно было манипулировать с иммунной системой так, как это нам желательно, и постоянно использовать ее для регуляции фертильности.

Важность иммунологических методов контрацепции и прерывания беременности следует из экспериментов «самой природы». С тех пор как появились первые сообщения Rumke, Wilson, все чаще диагностируются случаи бесплодия неясной этиологии, при которых отмечаются иммунологические нарушения того или иного типа. Основное внимание исследователей привлекали антитела к сперматозоидам, однако были

получены данные о том, что в сыворотках бесплодных лиц присутствуют антитела к блестящей оболочке яйцеклетки и к репродуктивным гормонам. Можно полагать, что в ближайшие годы будут обнаружены антитела (или открыт клеточный иммунитет) к другим антигенам репродуктивного тракта у бесплодных лиц и женщин, страдающих привычными выкидышами. Эти сведения будут иметь важное значение в решении ряда задач. Будут идентифицированы специфические антигены, способные влиять на фертильность, и выяснены клинические побочные явления, вызываемые иммунизацией против них.

Более четкий анализ этой патологии поможет разработать методы рационального лечения от бесплодия супружеских пар, которые хотят иметь детей.

Сперматозоиды несут аутоантигены и являются иммуногенными у человека. Отсутствие толерантности к этим антигенам, возможно, объясняется появлением их в поздней стадии онтогенеза и изолированностью от иммунной системы. В случаях нарушения гематотестикулярного барьера легко образуются аутоантитела. Именно так происходит иммунизация у лиц, перенесших вазэктомию, у которых сперма может проникнуть в циркулирующую кровь и лимфу. Такие антитела образуются в довольно большом количестве случаев у мужчин после вазэктомии. В главе 3 с позиций современного уровня знаний рассматриваются кинетика, сроки появления, стойкость, продолжительность образования антиспермальных аутоантител и их влияние на функции организма.

Весьма интересным аспектом проблемы размножения является то, что плод защищен от отторжения иммунной системой материнского организма, несмотря на то что он содержит 50 % отцовской генетической информации, «чужеродной» для матери. Очевидно, ряд механизмов взаимодействуют для того, чтобы обеспечить выживание вида и защитить плод от действия обычных процессов отторжения. Эти механизмы были рассмотрены в главе 4. Возможно, некоторые из них действуют при раке. Эмбрион и злокачественные клетки имеют ряд общих особенностей, и широко распространенный феномен заключается в эктопическом появлении фетальных белков в злокачественных клетках. Механизмы, исключающие отторжение злокачественных клеток иммунной системой хозяина, в некоторых отношениях сходны с защитными механизмами эмбриона, конечно, помимо защиты, обусловленной особым анатомическим местоположением плода и плаценты.

Были разработаны иммунологические методы для определения гормонов, причем чувствительность этих методов намного превосходит другие (см. главу 6). Определенные данные, полученные при исследовании малых объемов жидкостей организма и тканевых экстрактов, в значительной мере помогли количественно изучить биологические ритмы и опреде-

лить динамику гормональных концентраций (профилей) и их взаимосвязей.

Гормоны влияют также на общую способность организма реагировать на антигены. Это влияние действует на двух уровнях. На определенных стадиях развития отсутствие гормона или его введение играет решающую роль для роста и дифференцировки ткани. Так, например, андрогены, введенные эмбрионам птиц, могут заблокировать развитие первичного лимфоидного органа, т. е. сумки Фабрициуса, и в дальнейшем организм не сможет вырабатывать антителообразующие клетки-предшественники. Многие другие гормоны (включая контрацептивные стероиды) либо способствуют иммунной реакции, либо подавляют ее в количественном (но не в качественном) отношении (см. главу 5).

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИФЕРТИЛЬНЫХ ВАКЦИН

Общие результаты научных исследований

1. Выявлен ряд молекул-мишеней, критических для репродукции. Доказано, что иммунологические методы воздействия на них защищают от зачатия и/или от сохранения беременности у экспериментальных животных.

Такие антигены находятся в репродуктивной системе как самцов, так и самок. Таким образом можно разработать вакцины, предназначенные как для мужского, так и для женского организма.

Ввиду множества звеньев возможного вмешательства следует полагать, что для регуляции фертильности можно разработать более одной вакцины.

2. Анализ сывороток, полученных от бесплодных супружеских пар, проведенный Международной группой исследователей при помощи стандартизованных методов, позволил определить свойства по крайней мере части веществ, вырабатываемых в репродуктивном тракте, к которым при природном бесплодии вырабатываются антитела. Эти случаи представляют прекрасную возможность для изучения побочных явлений и осложнений (помимо бесплодия), если последние вообще возможны при активной иммунизации против данного антигена, в течение более или менее длительного периода.

3. Разработаны усовершенствованные методы, позволяющие получить интересующие исследователей вещества в чистом и гомогенном виде. Таким образом, в результате методических разработок устранена основная причина нежелательных побочных реакций, которые прежде были обусловлены использованием не полностью очищенных препаратов.

Методы оценки чистоты стали более строгими, повысилась их аналитическая разрешающая способность.

4. Иммунная система способна усиливать действие небольших примесей в химически очищенном препарате. Когда это было установлено, то были предложены иммунохимические методы обработки для абсорбции небольших примесей, позволяющие получить антигены не только необходимой химической чистоты, но и большой иммунологической совместимости.

5. Значительным достижением явились эксперименты, в которых удалось вызвать иммунный ответ против определенного, «своего» белка или гормона у изовидов. Показано, что при соединении иммунологически толерантного белка с «носителем» или гаптенными группами белок становится антигенным, причем можно не прибегать к недопустимым адъювантам. Было доказано, что этот принцип может быть использован у человека. Он был подтвержден в отношении ответа против ХГЧ, но имеет более широкое распространение и применим к другим антифертильным вакцинам.

6. Одна из антифертильных вакцин (Оч- β -ХГЧ-СА) уже настолько отработана, что можно было приступить к первым клинико-фармакологическим испытаниям I фазы. Результаты этих исследований дают ценную информацию. Многие необоснованные опасения развеялись, и, таким образом, удалось преодолеть теоретический барьер для дальнейшей работы с антифертильными вакцинами. Кроме того, результаты этих испытаний позволили установить недочеты современных иммунологических методов, а также требования, которые следует предъявлять к антифертильным вакцинам, предназначенным для применения у человека и основанным на белках человеческого происхождения.

7. Параллельные исследования, проводившиеся в нескольких лабораториях на пептидах, представляющих собой часть гормональной субъединицы, показали, что наличия антител еще недостаточно. Антитела моновалентного типа или антитела, связывающиеся с посторонней частью молекулы, могут быть неспособны нейтрализовать биологическую активность гормона и эффективно регулировать фертильность. В некоторых случаях эти антитела могут усилить биологическую активность молекулы, удливив полупериод ее существования в системе (или период полураспада).

8. Иммунный ответ в репродуктивном тракте может быть «облегчающего» типа или типа «отторжения». Первый тип защищает плод от иммунологического отторжения. Для того чтобы антифертильные вакцины были эффективны, они должны вызывать ответ типа «отторжения».

9. При изучении специфических антител к гормонам во многих случаях удалось получить ценную информацию, уточняющую биологическую роль гормона.

Каковы проблемы, сформулированные в результате современных исследований!

Одной из сложных проблем, связанных с применением иммунологических методов регуляции фертильности, является индивидуальная вариабельность иммунного ответа. Факторы, от которых зависит эта вариабельность, известны не полностью¹. К числу их относятся генетическое предрасположение, эндокринные факторы и питание. Внешние стрессы оказывают быстро проходящее или более стойкое влияние на количественную степень и качество иммунного ответа. Следует разработать методы для усиления иммунного ответа выше порогового, необходимого для того, чтобы вмешательство на данном этапе было эффективным. Если этого не будет сделано, то иммунологические методы могут иметь только демографическое значение для населения в целом, но не смогут обеспечить защиту каждого из реципиентов.

Здесь можно отметить, что вариабельность иммунного ответа характерна не только для антифертильных вакцин, она наблюдается также и при применении других вакцин, разработанных против заразных болезней. Однако в последнем случае имеется одно благоприятное обстоятельство. Не у всех жителей данного населенного пункта инфицирующий агент присутствует в достаточном количестве для того, чтобы болезнь развилась. Укрепление иммунитета, хотя бы у части популяции, в общем лимитирует эпидемию и таким образом играет положительную роль. Среди потребителей антифертильных вакцин дело будет обстоять иначе. Это будут мужчины и женщины, фертильность которых доказана, у которых уже имеется желаемое число детей, или же те, которые хотят сделать перерыв между их рождениями. Если вакцина не обеспечит иммунитета, то женщины могут забеременеть. В настоящее время это одна из основных проблем, требующих изучения и разработки, и пока она не будет решена, антифертильные вакцины не смогут применяться в широких масштабах.

Каковы перспективы решения этой проблемы?

Людей нельзя считать строго инбредными (за исключением отдельных изолированных популяций, которые встречаются редко). Поэтому трудно представить себе, что в какой-либо популяции будет значительное число лиц, совершенно способных отвечать на данный набор антигенов, особенно если каждый из них имеет множественный набор антигенных де-

¹ Можно считать доказанным, что индивидуальная внутривидовая вариабельность антителогенеза обусловлена главным образом генами иммунного ответа (Ig-гены). — *Прим. ред.*

терминант. Проблема заключается главным образом в количественной степени ответа, т. е. необходимости усилить иммунный ответ до адекватного уровня у слабо отвечающих лиц. Можно представить себе несколько способов удовлетворения этого требования. В настоящее время в перспективе уже можно говорить об адъювантах, столь же сильных, как ПАФ. По данным литературы, сильными адъювантами являются мукоидепептиды, соответствующие структуре компонентов клеточной стенки микобактерий, однако некоторые из них в высоких дозах токсичны. В настоящее время готовится большое число различных дериватов и аналогов с тем, чтобы исключить токсичность без потери адъювантных свойств. Липополисахариды грамотрицательных бактерий также являются поликлональными стимуляторами антителообразующих клеток. Они не получили широкого применения из-за своей токсичности и, в частности, пирогенных свойств. Однако токсичность сукцинил- и фталилдериватов липополисахаридов в несколько сотен раз ниже при сохранении адъювантных свойств. Другие компоненты, первоначально полученные из бактерий, детально изучаются в настоящее время, и надо полагать, что в ближайшем будущем мы будем располагать рядом веществ, пригодных для использования в качестве адъювантов в вакцинах.

Способ введения вакцины также может влиять на достигаемые титры и продолжительность иммунного ответа. Применение препаратов пролонгированного действия, применяемых на адсорбентах, на масляной основе или в виде других форм, обеспечивающих непрерывное выделение активного вещества в низких дозах в течение длительного времени, может быть выгодным для индукции иммунного ответа. Установлено, что антигены, введенные в виде липосом, вызывают усиленный иммунный ответ. Известно, что стойкая антигенная стимуляция, как, например, при одном из методов создания аутоиммунитета против антигена (антигенов) спермы, описанного в главе 9, эффективна почти в 100 % случаев. Короче говоря, хотя эта проблема и представляется грандиозной, возможно, что ее удастся разрешить. Опыт разработки антифертильных вакцин может привести к созданию средств, которые будут с успехом использованы и для получения вакцины против паразитных болезней.

ДОСТИЖЕНИЯ В ОБЛАСТИ РАЗРАБОТКИ РАЗЛИЧНЫХ АНТИФЕРТИЛЬНЫХ ВАКЦИН

Был изучен ряд антигенов, которые в принципе могут представлять интерес. Так, например, было доказано, что к бесплодию может привести иммунизация против одного или нескольких физиологических гормонов. Это — рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона (РГ-ЛГ), сам ЛГ, ФСГ и гонад-

ные стероиды. Во всех случаях успешная регуляция фертильности сопровождается побочными явлениями такого же рода, как при недостатке половых стероидов. Нейтрализация антителами физиологического гормона, который подчиняется регуляции по принципу обратной связи, обуславливает гиперактивацию стимулирующего гормона и, следовательно, может привести к гипертрофии вырабатывающей его железы.

Постоянная нейтрализация образующегося гормона антителами циркулирующей крови может привести также к образованию иммунных комплексов, способных вызвать повреждение почек и других уязвимых органов. Таким образом, методы, направленные против гормонов системы гипоталамус — гипофиз — гонады, могут оказаться непригодными для клинического применения. Тем не менее некоторые из них могут использоваться для регуляции фертильности у животных.

Для клинических целей максимальный интерес должны представлять антигены, присущие сперматозоидам или яйцеклетке и специфичные для них. Антигены блестящей оболочки, окружающей яйцеклетку млекопитающих, содержат ряд гликопротеинов, выполняющих важные функции.

Антитела к ним предупреждают прикрепление сперматозоида к «рецепторам» и таким образом блокируют процесс оплодотворения. Представители различных вероисповеданий могут примириться с блокадой фертильности, наступающей до оплодотворения.

Вмешательство на этом этапе никак не нарушает нормальных физиологических функций — развития фолликула, овуляции и образования половых стероидов. В результате изучения этого вопроса нам удалось определить требования, которым должна отвечать система. Были разработаны методы, позволяющие получить блестящую оболочку яйцеклетки в относительно чистом виде и приготовить этот материал в больших количествах при помощи механических средств. Стала доступной также солюбилизация (растворение) антигенов блестящей оболочки. Во многих лабораториях ведется работа по очистке этого материала для того, чтобы можно было получать только те компоненты, которые специфичны для блестящей оболочки и антитела к которым способны блокировать фертильность. Изучается также вопрос о возможности использования антигенов блестящей оболочки от других животных, чтобы получить антитела, перекрестно реагирующие с яйцеклеткой человека. Установлено, что блестящая оболочка, взятая более чем от одного вида животных, индуцирует образование антител, перекрестно реагирующих с яйцеклеткой человека, как можно убедиться при использовании методов иммунофлюоресценции. Эти наблюдения еще не гарантируют блокады проникновения сперматозоидов в яйцеклетку этими антителами, и потребуются дальнейшие исследования, чтобы подтвердить эту способность.

Сперма содержит более одного специфического антигена; об этом можно судить по связыванию и реактивности антител, обнаруживаемых у больных, страдающих бесплодием. Тот факт, что антифертильные свойства присущи антигенам спермы, а не антигенам семенной плазмы, говорит о том, что для иммунизации необходимо избегать использования цельной спермы, экстрактов семенника и компонентов семенной плазмы, пассивно связанных со сперматозоидами.

В настоящее время во многих лабораториях предпринимаются попытки выделения антигенов, специфичных для спермы. Наибольшие успехи достигнуты в работе с лактатдегидрогеназой (ЛДГ-х). Этот фермент является тетрамером пептида-С и весьма отличается от мономеров, из которых состоит общеизвестная лактатдегидрогеназа скелетных мышц, сердца (миокарда) и других тканей организма. Белок этот закодирован геном Y-хромосомы.

В женском организме этого белка не должно быть. Таким образом, антитела к этому ферменту должны перекрестно реагировать с другими тканями женского организма. Фермент удалось очистить так, что он стал гомогенным. Его свойства хорошо изучены. Химическая структура его известна, и возможно, что в ближайшем будущем удастся найти участки молекулы, ответственные за иммунные и биологические свойства. Если эти попытки будут успешны, то мы получим необходимый для иммунизации химически синтезированный пептид. Ясно, что сперма человека будет, возможно, не слишком обильным источником получения фермента для приготовления вакцины. Однако известно, что мышьяная ЛДГ-х вступает в перекрестную реакцию с белком спермы человека. Таким образом, быть может, удастся использовать сперму соответствующих животных для приготовления фермента, пока мы не научимся получать синтетические антигены.

В сыворотке некоторых больных, страдающих бесплодием, были обнаружены антитела к ЛДГ-х, что таким образом подтверждает предположение о том, что адекватный иммунный ответ против этого белка может блокировать фертильность. Неизвестно, каким образом при бесплодии вырабатываются антитела против ЛДГ-х. У экспериментальных животных для изо- или гетероиммунизации требуются сильные адъюванты, например полный адъювант Фрейнда. Однако эти вмешательства ведут только к снижению фертильности, но не блокируют ее полностью. Для полного эффекта требуются высокие титры антител не только в циркулирующей крови, но и в репродуктивном тракте, по которому проходят сперматозоиды. Таким образом, необходимо разработать более эффективные методы иммунизации.

Печальный опыт применения неочищенных тканевых экс-

трактов и полуочищенных препаратов, которые давали побочные явления, побудил исследователей пользоваться чистыми изолированными антигенами. При очищении иммуногенность их всегда снижалась. Поскольку стало ясно, что для блокирования фертильности абсолютно необходим высокий иммунный ответ, по крайней мере превышающий пороговый уровень, то, возможно, было бы целесообразно пользоваться в виде иммуногенов смесями специфичных не реагирующих перекрестно антигенов вместо отдельных белков. Было бы желательно установить, будет ли вакцина, состоящая более чем из одного белка, например из ЛДГ-х и акрозина, более эффективна, чем вакцины, основанные на одном из этих белков.

Другой принцип, позволяющий получить иммунный ответ на антигены спермы почти в 100 % случаев, заключается в том, чтобы использовать аутоантигенные свойства белков, появляющиеся в организме в постнатальном периоде развития с началом сперматогенеза. Иммунная система толерантна к клеточным компонентам и продуктам, вырабатываемым в эмбриональном периоде жизни. Однако она обладает способностью реагировать на вещества, отличимые от «своих» компонентов. Очевидно, к этой категории относятся несколько компонентов спермы, в том числе ЛДГ-х, акрозин и все остальные белки, находящиеся в головной, хвостовой части или теле сперматозоида, присутствующие только в сперме и отсутствующие в других тканях организма. Следовательно, против этих компонентов можно было бы вызвать избирательный иммунный ответ, если бы лимфоидные клетки могли проникнуть в ту область, где развиваются зародышевые клетки. Для этой цели можно было бы использовать такой агент, как БЦЖ, о чем было сказано в главе 9. Этот метод эффективен почти в 100 % случаев. Пожалуй, это единственный в настоящее время пример 100 % эффективности иммунологического метода. Одним из способов решения проблемы неадекватного и вариабельного иммунного ответа при изо- и гетероиммунизации, возможно, будет стойкая поливалентная антигенная стимуляция. БЦЖ может быть использована у животных всех видов, у которых развитие зародышевых клеток происходит в постнатальном периоде, а основной аппарат семенников закладывается в эмбриональном периоде.

Эта вакцина была успешно испытана у крыс, морских свинок, кроликов, собак и макак резусов. При правильной дозировке иммунная реакция избирательно направлена против развития зародышевых клеток, а не против клеток Лейдига, вырабатывающих мужские половые стероиды. Этот принцип может быть безотлагательно использован в ветеринарии, если необходимо прервать образование спермы и почти полностью ликвидировать подвижные сперматозоиды в эякуляте без потери андрогенов (см. главу 13). Для того чтобы использовать этот метод в клинических целях, потребуются длительные

исследования с целью установления возможных побочных явлений. В принципе этот метод может быть как обратимым, так и необратимым способом регуляции фертильности.

СТАДИОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИГЕНЫ

Значительный интерес могут представлять перекрестно реагирующие антигены эмбриона ранних стадий развития и тератом.

Если удастся вызвать адекватный иммунный ответ против них в фаллопиевой трубе и в матке и если этот иммунитет будет иметь не «облегчающий», а «отторгающий» характер против антигенов эмбриона и тератом, то мы можем решить двойную задачу, а именно регулировать фертильность и бороться с тератомами. Тератомы могут служить источником антигенов, так как вряд ли удастся воспользоваться для этой цели эмбрионами ранних стадий развития. Исследования в этом направлении едва начались, и еще рано рассчитывать на практические результаты.

КОМПОНЕНТЫ ПЛАЦЕНТЫ И РАННИЕ ПРОДУКТЫ

Формирование плаценты начинается с возникновением беременности. Вмешательство на этом уровне не должно нарушать основные физиологические функции овуляции и нормального образования половых стероидов. Behrman, Beer, Billingham и ряд других авторов более 10 лет назад показали, что беременность можно прервать при помощи антиплацентарной иммунизации. Однако иммунизация цельной плацентой также вызывала побочные явления, главным образом повреждение почек.

Поэтому были предприняты попытки очищения и выделения плацентоспецифических белков. С тех пор удалось получить ряд таких белков, о них было сказано в главе 10. Иммунизация против некоторых белков, например SP, дает частичный эффект в отношении регуляции фертильности. Однако в большинстве случаев беременность прерывалась в поздние сроки. Чем позднее происходит выкидыш, тем более рискованно прерывание беременности. Таким образом было бы желательно вмешиваться на самых ранних этапах беременности, в идеале — до имплантации, во время этого процесса или же сразу после него. Такова задача, которую следует решать при применении вакцины против ХГЧ.

В начале 70-х годов был определен химический состав ХГЧ. Установлено, что его молекула состоит из двух субъединиц. К 1975 г. была выяснена первичная структура β -субъединицы ХГЧ. Эта субъединица представляет собой гликопептид из 145 аминокислот. Существуют большие участки гомологии

между β -ЛГЧ и β -ХГЧ. Однако β -ХГЧ отличается от β -ЛГЧ по 51 аминокислотному остатку. Предполагалось использовать в качестве иммуногена в анти-ХГЧ вакцинах либо цельную β -ХГЧ, либо ее фрагмент, желательного соответствующий области, специфичной для ХГЧ. Были испытаны оба принципа. Ниже приводятся общие итоги.

1. С-терминальные фрагменты β -ХГЧ могут индуцировать образование антител, не вступающих в перекрестную реакцию с ЛГЧ. Однако антитела распознают последовательности аминокислот, и необходимо установить, встречаются ли такие последовательности в других гормональных и негормональных белках, кроме ХГЧ. Антитела в основном одновалентны и обладают низкой способностью нейтрализации ХГЧ. Таким образом, вакцина, состоящая из С-терминального пептида, с длиной участка, специфичного для ХГЧ, имеет довольно слабую иммуногенность и не всегда проявляет биологическую активность, хотя антитела не реагируют с ЛГЧ.

Весьма маловероятно, что на практике удастся использовать вакцину, основанную на фрагменте β -субъединицы с молекулой такой длины.

2. В настоящее время получена некоторая информация об иммунодетерминантных участках β -ХГЧ и тех детерминантах, от которых зависит биологическая активность гормона. Эти данные должны помочь определить другие последовательности в молекуле β -ХГЧ для экспериментов с будущими вакцинами.

3. При решении трех задач — сохранить иммуногенность, обеспечить способность антител к нейтрализации ХГЧ и избежать перекрестной реактивности с ЛГЧ, очевидно, необходимо провести исследования с химическими дериватами β -ХГЧ и модифицированными β -ХГЧ.

4. До настоящего времени наиболее практичной оказалась вакцина, основанная на β -ХГЧ. Иммунизация β -ХГЧ у мармозеток, павианов и в меньшей степени у шимпанзе вызывает бесплодие. У этих видов приматов иммунизация не нарушает менструальных циклов и не препятствует овуляции.

Была создана вакцина, в которой иммунохимически очищенная β -ХГЧ соединена со столбнячным анатоксином (Оч- β -ХГЧ-СА); выяснилось, что она индуцирует образование антител против ХГЧ и против возбудителя столбняка у животных некоторых видов, включая макаков резусов, павианов и шимпанзе.

Антитела нейтрализовали биологическую активность ХГЧ как *in vivo*, так и *in vitro*. Они избирательно реагировали с ХГЧ и давали слабую перекрестную реакцию с ЛГЧ. Перекрестных реакций с другими гипофизарными гормонами не было обнаружено. Активная иммунизация этой вакциной не нарушала эндокринных, метаболических процессов и функции различных органов.

В шести различных центрах пяти стран под руководством выдающихся ученых-клиницистов была проведена I фаза клинических испытаний этой вакцины. Всего вакциной были иммунизированы 63 женщины. Иммунизация не нарушала менструального цикла. У женщин происходила овуляция, судя по уровню прогестерона в плазме в лютеальной фазе цикла и биопсии эндометрия. Либидо было сохранено. Не обнаружено существенных изменений клеточного состава и химических элементов крови.

Функции надпочечников, щитовидной железы, поджелудочной железы и гипофиза были в норме. В общем был сделан вывод, что вакцина в той дозировке и по той схеме, которые были использованы, почти лишена токсического действия. Раа с соавт. пришли к таким же выводам при обследовании 2 женщин, иммунизированных β -ХГЧ, модифицированной гап-теном, у которых концентрации гормонов остались без изменений.

Во многих отношениях эта вакцина могла бы служить прототипом для антифертильных вакцин, однако были выявлены и некоторые трудности. Основная из них — индивидуальная вариабельность иммунного ответа. Недостаточно высокие титры антител не предохраняют от беременности. Прежде чем данная или другие антифертильные вакцины будут использованы на практике, необходимо решить эту проблему.

Возможно, что в ближайшие годы для устранения этих недостатков будут выбраны новые пути иммунизации.

Несмотря на то что ХГЧ имеет много преимуществ в качестве мишени для антифертильных вакцин, он непригоден по другим соображениям. Человеческий хориогонадотропин вырабатывается в больших количествах, и в ранней фазе беременности уровень его резко повышается. Высокая антигенная нагрузка требует столь же высоких титров антител, для того чтобы нейтрализовать антител.

В последние годы ХГЧ был обнаружен и при других состояниях организма, кроме беременности. Ввиду возможности синтеза этого гормона в здоровых тканях, хотя и в очень низких количествах, возникает вопрос о том, вполне ли безопасна иммунизация против него. Вследствие этого могут стать необходимыми длительные токсикологические исследования, хотя данные, которыми мы располагаем в настоящее время, не дают оснований для тревоги.

Интересны сообщения об эктопическом синтезе гормона в различных новообразованиях. В нетрофобластных опухолях ХГЧ вырабатывается в значительно меньших количествах, чем у беременных или при трофобластных раках, таких, как хориокарцинома (см. главу 11). Клетки хориокарциномы BeWo, образующие ХГЧ, подвергаются цитотоксическому повреждению, если они культивируются *in vitro* в присутствии антител к ХГЧ и комплемента. Если цитотоксическое действие анти-

тел к ХГЧ будет установлено и в отношении других опухолей, вырабатывающих ХГЧ, то вакцины против этого гормона, возможно, окажутся более ценными при лечении рака, чем для регуляции фертильности. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

КОГДА АНТИФЕРТИЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ БУДУТ ГОТОВЫ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ!

В настоящее время минимум четыре вакцины уже довольно глубоко изучены и эффективность их доказана на экспериментальных моделях. Это:

- 1) вакцина против ХГЧ;
- 2) вакцина против ЛДГ-х;
- 3) аутоиммунизация против белков спермы, развивающихся в поздние стадии онтогенеза;
- 4) вакцина против антигенов блестящей оболочки яйцеклетки;
- 5) вакцина против РГ-ЛГ.

Для того чтобы сделать следующий шаг и перейти к клиническим испытаниям, необходимо решить проблемы, связанные с разработкой продукта и установлением безопасности его применения; эти проблемы являются особыми для каждой вакцины. Трудности возникают при использовании не всех вакцин. Некоторые из них могут быть подготовлены раньше остальных. Создание вакцин для регуляции фертильности — это принципиально новый шаг, вызывающий опасения в отношении безопасности их для организма при длительном использовании. К производству противозачаточных средств вообще предъявляются более строгие требования, чем к созданию остальных медикаментов. Противозачаточные средства предназначены для молодых здоровых людей, которым, возможно, придется пользоваться ими в течение 20 лет и дольше. Современные критерии безопасности, сформулированные фармацевтическими агентствами для надзора за медикаментами, таковы, что ни одно новое противозачаточное средство не может поступить в продажу без детального изучения безвредности их применения и многоэтапных клинических испытаний. Очевидно, этот процесс продлится не менее 5, а может, и 15 лет в зависимости от характера продукта и строгости критериев, предъявляемых к нему.

Быстрому созданию потенциально перспективной вакцины весьма мешает отсутствие предыдущего клинического опыта с такими контрацептивными средствами. В различных странах агентства, осуществляющие надзор за медикаментами, даже не сформулировали официальных руководящих указаний по изготовлению антифертильных вакцин, хотя некоторые ориентировочные предложения были высказаны (см. главу 12).

Быть может, целесообразным решением этой проблемы

было бы использование иммунологических средств для регуляции фертильности у домашних животных и в ветеринарии. Иммунологические методы можно испытать на самках для предупреждения течки и на самцах для прекращения сперматогенеза. Уже через 1—2 года можно будет рассчитывать на то, что такие вакцины для использования в ветеринарии поступят в продажу. Широкое изучение на миллионах животных даст нам ценную информацию как об эффективности иммунологических методов, так и безопасности их применения. Очевидно, будут определены даже редкие побочные явления. Результаты этого исследования будут чрезвычайно важны. Если этот опыт будет успешным и подтвердит безопасность использования иммунологических средств, то это укрепит доверие к ним и позволит быстрее приступить к их применению у человека. Если же результаты будут недостаточно убедительными, то можно будет наметить меры дальнейшего совершенствования технологии изготовления антифертильных вакцин.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Азооспермия обструктивная, анастомоз вазэпидидимальный 39
- Акрозин 102
- свойства 102
- Активная иммунизация и перенос антител для прерывания беременности 78
- Аллергические реакции повышенной чувствительности 30
- Амиллоидоз у свинок, иммунизированных спермой 38
- Анастомоз вазэпидидимальный у больных обструктивной азооспермией 39
- Анафилаксия после половых сношений 30
- Андростенодион, уровень в крови после вазэктомии 37
- Антиген(ы) асперматогенный 90
- блестящей оболочки 115
- вызывающие образование агглютинирующих антител, локализация 24
- критический, источники 86
- маннанные 103
- — хемотип I 103
- — — II 103
- мужские, иммунизация женских особей 98
- — — — — вторичная 98
- — — — — недостатки 106
- — — — — первичная 98
- — — — — через генитальный тракт 98
- овариальные 114
- плаценты 120
- плода, сенсибилизация матери 43
- покрывающие сперму 24
- присущие сперме 24
- спермы 178
- — солюбилизация 26
- стадиоспецифические 118, 180
- трофобласта 120
- эмбриональные 118
- яйценосного холмика и лучистого венца 114
- Антиспермальные антитела у бесплодных пар 20
- Антисыворотки специфические, приготовление 72
- Антитела агглютинирующие, образование 24
- антиплацентарные, способность прерывать беременность 120
- антиспермальные 21, 23
- — агглютинирующие 23
- — генитальном тракте против антигенов 29
- — — — — вирусов 29
- — — — — грибов 29
- — влияние на бесплодие 26
- — иммобилизующие 23
- — против внутренних компонентов 23
- — роль в аутоиммунной реакции с другими тканями 31
- — у бесплодных пар 20, 29
- — — женщин бесплодных 22
- — — — — замужних 28
- — цитотоксические 23
- — естественные против других антигенов репродуктивной системы у бесплодных пар 31
- — защитные, предохраняющие плод от иммунного ответа 51
- — и комплексы антиген — антитело 57
- — к аллоантигенам 22
- — антигенам трофобласта 44
- — блестящей оболочке 116
- — лактоферрину 25
- — различным компонентам спермы, действие на плодвитость кроличьих 87
- — β -ХГЧ 142
- — нейтрализация биологической активности клеток Лейдига 18
- — перекрестная реактивность 72
- — против сперматозоидов 23
- — слизи шейки матки бесплодной женщины 22
- — спермагглютинирующие в сыворотке мужчин после вазэктомии 35
- — — после вазэктомии, исчезновение 34
- — — — — появление 34
- — — — — стойкость 35
- — — — — спермоиммобилизующие в сыворотке мужчин после вазэктомии 35
- — — спермореагирующие 21
- — — у мужчин, перенесших вазэктомию 33
- — — спермоцитотоксические в сыворотке мужчин после вазэктомии 35
- — типы у бесплодных пар 22

- цитотоксические, образование у мужчин после вазэктомии 34
- Антифертильные вакцины** 13, 17
 - для практического применения 183
 - — — применение 171
 - — — перспективы 173
 - — — разработка, достижения 176
 - — — создание 158
- Артрит**, заболеваемость после вазэктомии 39
- Асперматогенез** аутоиммунный, длительность 90
 - — — обратимость 90
 - — — роль антител 89
 - — — клеточного иммунитета 99
- Асперматогенный антиген** 90
- Аутоагглютинины** у бесплодных мужчин 22
- Аутоантигены** спермы, влияние на образование антиспермальных антител 92
 - — — очистка 91
- Аутоиммунизация**, возможности в ограничении рождаемости 97
 - с полным адьювантом Фрейнда 88
- N-Ацетил-пиридин-хлорид**, применение 26
- Барьер трофобластный** 46
- Белки** негормональные, связанные с беременностью 55
 - плацентарные негормональные 121
- Белок**, специфичный для беременности 122
- Беременность**, белок специфичный 122
 - иммунные реакции, угнетение 51
 - иммунобиология 41
 - концентрация в крови хориогонадотропина 53
 - — — хориосоматотропина 53
 - моча 54
 - появление в крови гормонов с иммунодепрессивной активностью 54
 - прерывание, роль антител антиплацентарных 120
 - сенсibilизация женского организма антигенами плода 43
 - у бесплодных женщин после полового воздержания 27
 - реакции иммунные, регулирование, роль α -фетопротеинов 55
- Бесплодие** естественное 20
 - обусловленное иммунологическими факторами 20
 - роль иммунологических факторов 21
- Бесплодные женщины**, антитела антиспермальные 22
 - — — слизи шейки матки 22
- — — беременность после полового воздержания 27
- — — сыворотки геагглютинирующие, анализ 25
 - — — свойства 25
 - — — спермагглютинирующие, реакция со спермой 27
 - — — мужнины, аутоагглютинины 22
 - — — исследование сперматозоидов, метод геагглютинации 21
 - — — сыворотки агглютинирующие, анализ 25
 - — — свойства 25
 - — — эякулят 20
 - — — пары, антитела антиспермальные 29
 - — — естественные против других антигенов репродуктивной системы 31
 - — — реактивность 23
 - — — типы 22
- Бласттрансформация** периферических лейкоцитов, подавление у беременных под действием ФГА 52
- Блокада** гормональная развития первичного лимфоидного органа 62
- БЦЖ**, применение для индукции азооспермии 93
 - — — стерилизация самцов 167
 - — — свойства 93
- Вакцины** антифертильные 13, 17
 - для практического применения 183
 - — — применение 171
 - — — перспективы 173
 - — — разработка, достижения 176
 - — — создание 158
 - для регуляции фертильности 16
- Оч- β -ХГЧ-СА** 135
- против хориогонадотропина человеческого 129, 141
- Вазэктомия** 33
 - влияние на заболеваемость артритом 39
 - — — — рассеянным склерозом 39
 - — — — тромбофлебитом 39
 - — — — уровень андростерона в семенной плазме 37
 - — — — гонадотропинов 37
 - — — — дегидротестостерона в семенной плазме 37
 - — — — дегидроэпиандростерона в крови 37
 - — — — половых стероидов 37
 - — — — прегненолона в крови 37
 - — — — тестостерона в крови 37
 - — — — — семенной плазме 37
 - иммунный ответ, влияние на семенники 36

- образование сперматозоидных гра- нулем 38
- у мужчин антител спермореаги- рующих 33
- — — — — цитотоксических 34
- — — — — гранулем 36
- — — — — профилактика 36
- осложнения 33
- роль в возникновении иммунного ответа 36
- — — — — регулирования численности семьи 33
- связь с аутоиммунными патологи- ческими реакциями 38
- спермагглютиныны у мужчин, ис- чезновение 34
- — — — — появление 34
- — — — — стойкость 35
- Ветеринария, регуляция фертильно- сти 164
- Вещества иммунодепрессивные в сы- воротке беременных женщин 53
- Выживание вида, условия 58
- Гетероиммунизация 85
- Гиалуронидаза 101
- свойства 102
- Гипофиз, действие тимотропное 62
- Гонадотропины, активность биоло- гическая, нейтрализация антитела- ми 18
- влияние иммунного ответа после вазэктомии 36
- хориальный человеческий, уровень при беременности 69
- Гормоны, активность иммуноде- прессивная, появление в крови при беременности 54
- беременности 68
- влияющие на иммунный ответ 62
- гипофизарные, роль в созревании фолликулов 109
- контрацептивные, влияние на им- мунный ответ 68
- концентрация в крови беременных женщин 53
- кортикостероидные, свойства 66
- лютеинизирующий, концентрация в плазме после вазэктомии 38
- — — — — роль в индукции овуляции 111
- — — — — стероидогенезе 111
- меченые 73
- определение, иммунологические методы 72
- — — — — радиоиммуноанализ 72
- плацентарные 123
- роль репродуктивная 83
- роста, действие стимулирующее 63
- соматотропный, свойства 64
- тиреоидные 65
- тиреотропный, действие 65

- фолликулостимулирующий, влия- ние на рост фолликулов 111
- — — — — концентрация в плазме, измене- ние после вазэктомии 38
- Гормональная блокада развития пер- вичного лимфоидного органа 62
- регуляция метаболизма тимуса 62
- Гранулемы сперматозоидные после вазэктомии 38
- Дегидротестостерон, концентрация в крови, изменение после вазэктомии 37
- Дегидроэпиандростерон, уровень в крови, изменение после вазэктомии 37
- Деоксихолат натрия, применение 26
- Дитиотректол, применение 26
- Естественное бесплодие, влияние иммунологических факторов 20
- Женская репродуктивная система 108
- Женские особи, иммунизация муж- скими антигенами 98
- — — — — вторичная 98
- — — — — недостатки 106
- — — — — первичная 98
- — — — — через генитальный тракт 98
- Женщины беременные иммунные реак- ции, регулирование, роль α -фето- протеинов 55
- — — — — концентрация в крови хориного- надотропина 53
- — — — — хориосоматотропина 53
- — — — — кровь, концентрация гормонов 53
- — — — — появление гормонов с имму- нодепрессивной активностью 55
- — — — — моча 54
- — — — — подавление бласттрансформации периферических лейкоцитов под действием ФГА 52
- — — — — сыворотка, вещества иммуноде- прессивные 53
- — — — — факторы ингибиторные 53
- — — — — бесплодные, антитела антиспер- мальные 22
- — — — — слизи шейки матки 22
- — — — — спермореагирующие 21
- — — — — аутоантитела к мышцам глад- ким 31
- — — — — клеткам коры надпочечни- ков 31
- — — — — париетальным 31
- — — — — эпителиальным щито- видной железы 31
- — — — — беременность после полового воздержания 27

- — сыворотки гемагглютинирующие, свойства 25
- — — спермагглютинирующие, реакция со спермой 27
- Жидкость семенная, компоненты 81
- фолликулярная 114
- — иммунодиффузия 114
- — иммуноэлектрофорез 114

Изоиммунизация 84

- антигены 99

Иммунизация активная 78

- — — особенности для контроля рождаемости 79
- женских особей мужскими антигенами 98
- — — — — вторичная 98
- — — — — недостатки 106
- — — — — первичная 98
- — — — — через генитальный тракт 98
- пассивная 78
- — — особенности для контроля рождаемости 79
- против антигенов женских 108
- — — — — преимущества 108
- — — — — спермы 102
- — — — — эмбриональных 108
- — — гипоталамического декапептида 110
- — — гормонов гонадных 113
- — — мужских антигенов 85
- — — репродуктивных антигенов, необходимость в разработке модельных систем 156
- — — — — риск 153
- — — — — требования безопасности 153
- — — хоригонадотропинов человека, последствия 149
- — — эмбриональных белков, влияние на рост опухолей 146
- — — β -ХГЧ 139
- — — самцов 165

Иммунитет клеточно-опосредованный 77

- клеточный 28
- местный и системный, сопоставление 78, 98
- трансплантационный в матке 45

Иммуноанализы ферментативные 74

Иммунная система, способность 18

Иммунные реакции, регулирование при беременности, роль α -фетопротеина 55

- — — угнетение при беременности 51

Иммунный ответ, влияние на плод 50

- — — вызванный вазэктомией, влияние на гонадотропины 37
- — — — — половые стероиды 37

— — — — — семенники 36

— — — — — эндокринные профили

37

— — — влияние α -фетопротеина 56

— — — клеточный на антигены плаценты 43

— — — — — плода 43

— — — после вазэктомии 36, 38

— — — — — влияние на семенники 36

— — — роль гормонов 62

— — — — — факторов, содержащихся в сперме 29

Иммунобиология беременности 41

Иммуногенность, определение 29

— — — сперматозоидов в репродуктивном тракте 29

Иммунологические методы регуляции фертильности в ветеринарии 164

— — — подходы к контрацепции 76

— — — факторы, влияние на бесплодие естественное 20

Клетки Лейдига, активность биологическая, нейтрализация антителами 18

Клетки-супрессоры 57

Т-Клетки тимусного происхождения, роль в клеточном иммунитете 52

Клеточный иммунитет 28

Кондомтерапия 27

Контроль рождаемости, роль иммунитета активного 79

— — — — — пассивного 79

Кортизон, действие на лимфоциты в тимусе 66

Кортикотропин плацентарный 68

Кровь беременных женщин, концентрация хоригонадотропина 53

— — — — — хориосоматотропина 53

— — — — — появление гормонов с иммунодепрессивной активностью 55

— — — концентрация андростендиола, изменение после вазэктомии 37

— — — дегидроэпиандростерона, изменение после вазэктомии 37

Лактатдегидрогеназа 99

— — — свойства 100

Лактоген плацентарный 68

— — — человеческий 123

Лактоферрин 25

Лейдига клетки, активность биологическая, нейтрализация антителами 18

Лимфоциты сенсibilизированные, действие на клетки, несущие антигены-мишени 19

Липополисахарид 103

— — — свойства 104

Лютенизирующий гормон, роль в
индукции овуляции 111
— — — — — стероидогенезе 111

Маннан дрожжевой 103
Маннанные антигены 103
— — — хемотип I 103
— — — II 103

Матка, иммунитет трансплантацион-
ный 45

— рог, реакции повышенной чувстви-
тельности локализованные 45

— — — — — специфические 44

— содержание секреторное 119

Мать и плод, генетическое несоответ-
ствие 50

— — — ткани пограничные, значение
46

— сенсибилизация антигенами плода
43

Меланома, обнаружение ХГЧ в сы-
воротке 147

Метаболизм тимуса, гормональная
регуляция 62

Метод гемагглютинации с антигеном,
выделенным из сперматозоидов 21

Молекула-мишень 19

Моча беременных женщин 54

Мужчины бесплодные, антитела 20

— — аутоагглютинины 22

— — сперматозонды, исследование 21

— — эякулят 20

— после вазэктомии, образование ан-
тител спермореагирующих 33

— — — — — цитотоксических 34

— — — — — гранулем 36

— — — — — спермагглютинины, исчезнове-
ние 34

— — — — — появление 34

— — — — — стойкость 35

— страдающие азооспермией, лече-
ние, анастомоз вазэпидидимальный
39

— фертильность после анастомоза
вазэпидидимального 39

Негормональные белки плацентарные
121

— — — связанные с беременностью 55

Опухоль(и) железы щитовидной, об-
наружение ХГЧ в сыворотке 147

— легкого, обнаружение ХГЧ в сыво-
ротке 147

— семенников, обнаружение ХГЧ в
сыворотке 147

Организм матери и плода, генетичес-
кое несоответствие 50

Органоспецифичность 89

Органы репродуктивные, функции,

влияние стероидов гонадных 113

— — — — — влияние эстрогенов 113

Ответ иммунный, влияние на плод 50*

— — — роль гормонов 60, 62

— — — — — факторов, содержащихся в
сперме 29

Оценка гормонов, иммунологические
методы 72

— противозачаточных агентов, имму-
нологические методы 72

Пары бесплодные, антитела антиспер-
мальные 20

— — — реактивность 23

— — — — — типы 22

Пассивная иммунизация 78

— — — особенности для контроля рож-
даемости 79

Патологические нарушения у женщин
после полового сношения 30

Плазма, концентрация андростерона,
изменение после вазэктомии 37

— — — гормона фолликулостимулирую-
щего, изменение после вазэктомии
88

— — — дегидротестостерона, изменение
после вазэктомии 37

— — — лютенизирующего гормона, из-
менение после вазэктомии 38

— — — тестостерона, изменение после
вазэктомии 37

Плацента, компоненты 180

— образование 120

— продукты ранние 180

— размеры 50

— функции 83

Плод, антигены, сенсибилизация ма-
тери 43

— защита, факторы 58

Плодовитость самок домашних жи-
вотных, контроль 168

Полный адъювант Фрейнда 88

Половые сношения, осложнения, ана-
филаксия 30

— стероиды, влияние на иммунологи-
ческие реакции взрослого организ-
ма 67

— — — — — функцию репродуктивных
органов 113

— — — — — роль в репродукции 31

— — — — — влияние иммунного ответа 37

Прегненолон, концентрация в крови,
изменение после вазэктомии 37

Прогестерон, влияние на иммунный
ответ 67

— — — — — роль в репродукции 81

Пролактин, сходство с соматотроп-
ным гормоном 65

Противозачаточные агенты, опреде-
ление, иммунологические методы 72

- Радиоиммуноанализ в определении гормонов 72
- Рак желез молочной, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- кроветворной ткани, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- почек, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- шейки матки, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- яичника, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- Рант-синдром 50
- Рассеянный склероз, заболеваемость после вазэктомии 39
- Реакции аллергические повышенной чувствительности 30
- Регуляция фертильности в ветеринарии 164
- численности семьи, вазэктомия 33
- Репродуктивная система женская 108
- иммунные воздействия целенаправленные 80
- Репродуктивные органы, функция, влияние эстрогенов 113
- — — роль стероидов гонадных 113
- Репродуктивный тракт, иммуногенность сперматозоидов 29
- Репродукция млекопитающих 80
- роль гормонов 83
- Рецепторы адреналина на лимфоцитах 70
- биогенных аминов на лимфоцитах 70
- гистамина на лимфоцитах 70
- простагландинов Е на лимфоцитах 70
- Рилизинг-гормон лютеинизируют 109
- — структура 110
- Рождаемость, ограничение, аутоиммунизация 97
- Саркома, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- Секреторное содержимое матки 119
- Семенная жидкость, компоненты 81
- Семенники, изменение, влияние иммунного ответа после вазэктомии 36
- Синцитиотрофобласт, устойчивость к нешним воздействиям 47, 48
- — — физическим стрессам 47, 48
- Система иммунная, способность 18
- репродуктивная женская 108
- Склероз рассеянный, заболеваемость после вазэктомии 39
- Сорбитолдегидрогеназа 102
- Сперма, антигены, солубилизация 26
- аутоантигены, очистка 91
- иммунизация свинок, амилоидоз 38
- содержание факторов, лимитирующих иммунный ответ 29
- Спермагглютинины, образование у мужчин после вазэктомии 34, 35
- Спермагглютинирующие сыворотки от бесплодных женщин, свойства 25
- Сперматогенез, роль гормона фолликулостимулирующего 111
- Сперматозондные гранулемы после вазэктомии 38
- Сперматозоид(ы) аллогенные и механизмы, содействующие фертильности 30
- анатомия молекулярная 26
- аутоантигенность 88
- — причины 28
- в репродуктивном тракте, иммуногенность 29
- идентичность в антигенном отношении 87
- исследование, метод агглютинации 21
- разделение 26
- — головка 26
- — тело 26
- — хвост 26
- структура 26
- число в эякуляте после анастомоза вазэпидидимального у больных азооспермией 39
- Специфичность видовая 89
- Средства противозачаточные стероидные 17
- Стерилизация самцов при внутрителикулярном введении БЦЖ 167
- хирургическая 16
- Стероиды половые, влияние на иммунологические реакции взрослого организма 67
- — — функции репродуктивных органов 113
- — — роль в репродукции 81
- контрацептивные, влияние на иммунный ответ 68
- Сыворотка(и), антитела спермореагирующие, роль в бесплодии 27
- беременных женщин, вещества иммунодепрессивные 53
- — — факторы ингибиторные 53
- больных аддисоновой болезнью реагирования с клетками коры надпочечника 31
- — — — — сперматидами 31
- лиц, страдающих бесплодием, анализ 25
- — — — — сбор 25
- мужчин после вазэктомии 35
- — — — — изучение 35

- — — — — определение антител спермагглютинирующих 35
- — — — — — спермоиммобилизующих 35
- — — — — — спермоцитотоксических 35
- спермагглютинирующие бесплодных женщин, реакция со спермой 27
- — — — — свойства 25
- Тестостерон, концентрация в крови, изменение после вазэктомии 37
- роль в репродукции 81
- Тимотропное действие гипофиза 63
- Тимус, метаболизм, регуляция гормональная 62
- Тиреоидные гормоны 65
- Тиреотропин плацентарный 68
- Тиреотропный гормон, действие 65
- Тракт репродуктивный, иммуногенность сперматозоидов 29
- Тромбофлебит, заболеваемость после вазэктомии 39
- Трофобласт, резистентность к иммунологическому отторжению 46
- свойства 48
- Трофобластный барьер 46
- Углеводы, последовательность на мембране гликопротеинов 102
- Уровень в крови андростендиона после вазэктомии 37
- — — — — половых стероидов, влияние иммунного ответа 37
- Фагоцитоз сперматозоидов у пациентов с азооспермией 36
- — — — — перевязанными семявыносящими протоками 36
- Фактор(ы) иммунодепрессивный у человека 53
- иммунологические, влияние на бесплодие естественное 20
- способствующие защите плода 58
- сыворотки ингибиторные 53
- блокирующие 51
- Ферментативные иммуносорбентные анализы 74
- — — — — варианты 75
- — — — — для антител 75
- — — — — хорионального гонадотропина человека 75
- Феромон 168
- Фертильность в ветеринарии, регуляция 164
- мужчин после анастомоза вазэпидимального 39
- после анастомоза 39
- регуляция 16
- методы иммунологические 17
- — с помощью вакцины 16

- у мужчин, ограничение 33
- а-Фетопrotein, влияние на иммунный ответ 56
- роль в регулировании иммунных реакций при беременности 55
- Фолликулостимулирующий гормон, влияние на рост фолликулов 111
- Фолликулы, созревание, роль гормонов гипофизарных 109
- — — — — фолликулостимулирующего 111
- Фракция Бермана плацентарная 121
- Фрейнда полный адъювант 88
- Хориогонадотропин человеческий 123
- — — — — действие на яичники 125
- — — — — значение для беременности 127
- — — — — концентрация в крови беременных женщин 53
- — — — — место образования 124
- — — — — обнаружение при меланоме 147
- — — — — опухоли легкого 147
- — — — — семенников 147
- — — — — щитовидной железы 147
- — — — — раке желудочно-кишечного тракта 147
- — — — — кроветворной ткани 147
- — — — — молочной железы 147
- — — — — почек 147
- — — — — шейки матки 147
- — — — — яичника 147
- — — — — саркоме 147
- — — — — роль при опухолевом росте 148
- — — — — сигнал беременности 126
- — — — — химическая природа 128
- β-Хориогонадотропин человеческий 133
- Хориокарцинома гестационная, обнаружение ХГЧ в сыворотке 147
- Хориосоматотропин, концентрация в крови беременных женщин 53
- Человеческий плацентарный лактоген 123
- хориогонадотропин 123
- — — — — действие на яичники 125
- — — — — значение для беременности 127
- — — — — место образования 124
- — — — — обнаружение при меланоме 147
- — — — — опухоли легкого 147
- — — — — семенников 147
- — — — — щитовидной железы 147
- — — — — раке желудочно-кишечного тракта 147
- — — — — кроветворной ткани 147
- — — — — молочной железы 147
- — — — — почек 147
- — — — — шейки матки 147
- — — — — яичника 147
- — — — — саркоме 147
- — — — — роль при опухолевом росте 148

— — сигнал беременности 126
— — химическая природа 128

Шейки матки бесплодной женщины 22

Эмбрион ранней стадии, присутствие антигенов, контролируемых отцовским геномом 42

Энцефаломиелит аутоиммунный 38
Эстрадиол, концентрация в плазме, изменение после вазэктомии 38
Эстрогены, влияние на репродуктивные органы 113
— роль в репродукции 81
Эякулят бесплодных мужчин 20

ДЖ. П. ТАЛВАР

Иммунология контрацепции (пер. с англ.)

Зав. редакцией *В. С. Залевский*
Редактор *Р. М. Хаитов*
Редактор издательства *Н. Н. Павлова*
Художественный редактор *Л. М. Воронцова*
Технический редактор *В. И. Табенская*
Корректор *Н. М. Рутман*

ИБ № 3198

Слано в набор 24.09.82. Подписано к печати 25.01.83. Формат бумаги 60×90^{1/16}. Бум. кн.-журн. гарн. лит. Печать высокая. Усл. печ. л. 12,0. Усл. кр.-отт. 12,25. Уч.-изд. л. 12,95. Тираж 15 000 экз. Заказ № 1730. Цена 90 к.
Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Московская типография № 6 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли.
109088, Москва, Ж-88, Южнопортовая ул., 24.

«МЕДИЦИНА»1983

Переводная литература по иммунологии
издательства «Медицина» в 1983 г.

**Городилова В. В.,
Боева М.
[СССР — НРБ]**

**«Иммунобиология
опухолевого роста»,
1983 г.**

**Под ред. С. Коена,
П. А. Уорда,
Мак-Класки Р. Т.**

**«Механизмы имму-
нопатологии» (пер. с
англ.), 1983 г.**

**Кормейн Р. Х.,
Асгар С. С.**

**Иммунология и бо-
лезни кожи» (пер. с
англ.), 1983 г.**

**Пучковская Н. А.,
Шульгина Н. Р.
[СССР];
Минева М. Г.,
Игнатова Р. К.
[НРБ]**

**«Иммунология глаз-
ной патологии»,
1983 г.**

**Под ред.
Р. А. Томпсона**

**«Последние достиже-
ния в клинической им-
мунологии» (пер. с
англ.), 1983 г.**